

**INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**



MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Avaliação da Qualidade do Polvo Congelado

António José Pereira Paulino Rocha

BEJA

2013

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Avaliação da Qualidade do Polvo Congelado

Dissertação de Mestrado apresentada na
Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja

Elaborado por:
António José Pereira Paulino Rocha

Orientada por: Doutora Silvina Ferro Palma
Co-orientada por: Doutora M^a João Barata de Carvalho

Beja
2013

Dedicatória

Ao meu querido filho

Agradecimentos

Quero expressar os meus sinceros agradecimentos a todos quantos, directa ou indirectamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Em particular:

À Doutora Silvina Ferro Palma pela orientação cuidada e atenta de todas as fases deste trabalho, pelo empenho que demonstrou na reunião de todas as condições para a realização deste trabalho, esclarecimentos, críticas e sugestões, bem como a revisão cuidadosa efectuada a este texto.

À Doutora Maria João Barata de Carvalho agradeço também pela simpatia, disponibilidade, soluções para a resolução de inúmeros problemas, encorajamento, sem os quais a concretização deste trabalho não teria sido possível.

Ao Doutor Nuno Bartolomeu de Alvarenga, pelo precioso incentivo e pelo apoio científico na caracterização reológica das amostras.

Aos colegas da ESAB que, de uma forma desinteressada, ofereceram o seu precioso tempo ao Pannel de Provadores.

A todas as pessoas que nas diferentes fases deram apoio laboratorial para a execução deste Projecto: Engenheira Manuela Costa, Engenheiro Miguel Floro, Sr. Miguel, Dona Fernanda e Dona Maria. Um bem-haja a todos.

Às fábricas de Produtos de Pesca Congelados sediadas em Sines, Laranjinha e Fripex, agradeço a disponibilidade demonstrada durante as várias visitas efectuadas às fábricas e em especial, ao Engenheiro Carlos Garcia, pela ajuda dispensada, mas também à sua extrema simpatia.

À ESAB, pela possibilidade que me concedeu de realizar o Mestrado, e pela facilidade dos meios concedidos durante todo o Projecto.

Por último, quero agradecer ao meu querido filho, António Pedro, e aos meus queridos pais pelo apoio, encorajamento e amor permanentes.

Resumo

Os polvos de zonas de pesca distintas, Atlântico Nordeste e Pacífico Nordeste, foram submetidos a diferentes técnicas de congelação. O primeiro, no estado fresco, foi congelado pelo método de congelação por ar forçado em túnel estático (-18°C); e o segundo, no estado congelado, foi submetido a semi-descongelação “tempering” e conduzido para recongelação em túnel estático (-18°C). Ambos os polvos, foram vidrados e secos. O tempo de conservação em congelação na fábrica foi de uma semana, entre -18 e -22°C.

Após a descongelação em refrigeração, o estudo prosseguiu em três fases. Na primeira fase determinaram-se a composição química (proteína, gordura, cinzas e humidade) e outros parâmetros físico-químicos (quebras de descongelação, pH, CRA, ABVT, cloretos, sódio e potássio). A segunda fase envolveu o tratamento térmico das amostras de polvo congelado e fresco, após o qual se realizaram a avaliação sensorial (apenas nas amostras de polvo fresco e congelado do Atlântico Nordeste), a textura instrumental, as perdas na cozedura e a cor. Na terceira fase estudou-se a influência do tempo de armazenamento em congelação na qualidade do polvo, determinando o índice de tiobarbitúrico e o perfil reológico nas dispersões proteicas.

A congelação não alterou significativamente os parâmetros físico-químicos e sensoriais. Efeitos positivos: composição química, dureza (sensorial e instrumental), elasticidade (sensorial), cromaticidade e diferença de cor (instrumental). A capacidade de retenção de água melhorou, fruto da adição de sal e da vidragem. Efeitos negativos: brilho, flavour a maresia (sensorial) e a luminosidade (instrumental).

O “tempering” e a recongelação aumentaram o ABVT e o pH e as perdas nas propriedades funcionais das proteínas do Polvo do Pacífico; este revelou ainda maior dureza, força de corte e fracturabilidade, relacionadas com as maiores dimensões que este polvo apresenta face ao polvo do Atlântico Nordeste. Ambos os polvos mostraram estabilidade com respeito à oxidação lipídica, e o perfil reológico demonstrou uma diminuição da consistência com o tempo de armazenamento em congelação.

Palavras-chave: Polvo, congelação, textura, análise sensorial.

Abstract

The octopuses from distinct fisheries areas of Northeast Atlantic and Northeast Pacific were subject to different freezing techniques. The first, in fresh condition, was frozen by air-blast freezing in batch tunnel (-18°C), and the second in a frozen condition, was subjected to tempering and conducted to refreezing in batch tunnel (-18°C). Both octopuses were glazed and dried. The frozen storage time in plant was for one week, between -18 and -22°C .

After thawing under refrigeration, the study continued into three phases. In the first phase, we determined the chemical composition (protein, fat, ash and moisture content) and other physico-chemical parameters (thawing drip, pH, WHC, TVB-N, chlorides, sodium and potassium). The second phase involved the treatment of fresh samples and frozen octopus, after which the sensory evaluation was performed (only in fresh samples and frozen octopus from the Northeast Atlantic), the instrumental texture, losses on cooking and color. In the third phase, we studied the influence of storage time on the quality of frozen octopus, determining the thiobarbituric acid reactive substances and the rheological profile in protein dispersions.

The physicochemical and sensory characteristics were not significantly change by the freezing process. Positive effects: chemical composition, hardness (sensory and instrumental), elasticity (sensory), chromaticity and color difference (instrumental). The ability to improve water retention was improved, resulting from the addition of salt and glazing. Negative effects: brightness, sea flavour (sensory) and luminosity (instrumental).

The tempering and refreezing, increased the TVB-N and pH, and the losses in the protein functional properties in the Pacific Northeast Octopus; this one revealed even greater hardness, shear force and fracturability, related to the larger size that Pacific Northeast octopus has, when compared with Northeast Atlantic octopus. Both octopuses had shown stability with respect to lipid oxidation and the rheological profile had shown a decrease in consistency related with the frozen storage time.

Keywords: Octopus, freezing, texture, sensorial analysis.

Índice

Dedicatória	i
Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Índice	ix
Índice de Figuras	xii
Índice de Tabelas	xiv
1. Introdução	1
1.1 Considerações gerais sobre o sector das pescas em Portugal.....	1
1.2 Indústria transformadora de produtos congelados em Sines.....	2
2. Objectivos	5
3. Revisão Bibliográfica	7
3.1 Caracterização do polvo.....	7
3.2 Artes de pesca para a captura de polvo.....	9
3.3 Composição química e valor nutricional do polvo.....	10
3.3.1 Água.....	11
3.3.2 Proteínas e compostos de azoto não proteico.....	12
3.3.3 Lípidos.....	13
3.3.4 Hidratos de carbono.....	14
3.3.5 Vitaminas.....	14
3.3.6 Minerais.....	15
3.4 Degradação do pescado fresco.....	16
3.4.1 Alterações <i>post-mortem</i>	16
3.4.2 Alterações sensoriais.....	17
3.4.3 Alterações autolíticas.....	19
3.4.4 Alterações microbiológicas.....	20
3.4.5 Aspectos particulares da degradação do polvo fresco.....	21
3.5 Principais operações no processo de fabrico de polvo congelado.....	23
3.5.1 Evisceração/Lavagem.....	23
3.5.2 Refrigeração/Pré-tratamento com sal.....	23
3.5.3 Congelação.....	24
3.5.3.1 Nucleação.....	25

3.5.3.2	Cristalização.....	25
3.5.3.3	Alterações físicas e químicas produzidas pela congelação.....	26
3.5.3.4	Técnicas de congelação e equipamentos.....	28
3.5.3.5	Túneis de congelação estáticos “Batch Freezers”.....	29
3.5.3.6	Armazenamento em congelação/ estabilidade do pescado congelado.....	30
3.5.4	Vidragem/Embalagem.....	35
3.5.5	“Tempering”/Descongelação.....	37
3.5.6	Recongelação.....	38
3.6	Qualidade do pescado congelado	39
3.6.1	Avaliação instrumental da cor.....	40
3.6.2	Avaliação instrumental da textura.....	41
3.6.2.1	Punção simples.....	42
3.6.2.2	Força de corte.....	44
3.6.3	Viscosidade.....	46
3.6.4	Avaliação sensorial.....	47
4.	Material e Métodos	51
4.1	Material Biológico	51
4.2	Reagentes	53
4.3	Métodos	53
4.3.1	Quebras de congelação e tratamento térmico.....	53
4.3.2	Determinação de pH.....	54
4.3.3	Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	54
4.3.4	Determinação da Humidade.....	55
4.3.5	Determinação da Cinza total.....	55
4.3.6	Determinação da Proteína Bruta.....	56
4.3.7	Determinação da Gordura Total.....	56
4.3.8	Determinação de Cloretos.....	56
4.3.9	Determinação do Azoto Básico Volátil Total (ABVT).....	57
4.3.10	Determinação do Sódio e Potássio.....	57
4.3.11	Determinação do ácido tiobarbitúrico (TBA).....	58
4.3.12	Avaliação instrumental.....	59
4.3.12.1	Determinação da cor.....	59
4.3.12.2	Análise de textura.....	60

4.3.12.3 Viscosidade.....	61
4.3.13 Análise sensorial.....	62
4.4 Análise Estatística.....	64
5. Resultados e Discussão.....	65
5.1 Avaliação da frescura do polvo na lota e fábrica de congelados.....	65
5.2 Avaliação Físico-Química.....	66
5.2.1 Quebras na descongelação.....	66
5.2.2 Composição química do polvo e pH.....	68
5.2.3 Azoto Básico Volátil Total (ABVT).....	71
5.2.4 CRA (Capacidade de Retenção de Água).....	72
5.2.5 Minerais.....	74
5.2.5.1 Sódio e Potássio.....	74
5.2.5.2 Cloretos.....	75
5.3 Tratamento térmico do polvo.....	78
5.3.1 Quebras no tratamento térmico.....	78
5.3.2 Cor.....	79
5.3.3 Punção simples.....	81
5.3.4 Força de corte.....	82
5.3.5 Análise sensorial.....	83
5.4 Influência do tempo na conservação em congelação.....	89
5.4.1 Viscosidade.....	89
5.4.2 Índice de tiobarbitúrico (TBA).....	92
6. Conclusão.....	97
7. Bibliografia.....	99
Anexo I.....	121
Anexo II.....	122

Índice de Figuras

Figura 1.1 — Fábrica de pescado congelado, Laranjinha.....	3
Figura 1.2 — Fábrica de pescado congelado, Friplex.....	4
Figura 3.1 — Polvo fresco, capturado na costa de Sines, Atlântico Nordeste; Ciclo de vida do polvo.....	7
Figura 3.2 — Artes de pesca para captura de polvo: alcatruzes e covos.....	9
Figura 3.3 — Potes; pote de madeira com um polvo gigante.....	10
Figura 3.4 — Cadeia mais vulgar de degradação do ATP.....	18
Figura 3.5 — Congelação em túnel estático.....	29
Figura 3.6 — Perfil de velocidades num túnel estático com pouca carga.....	29
Figura 3.7 — Arranjo tridimensional das fibras musculares e fibras do tecido conjuntivo.....	44
Figura 4.1 — Fluxograma do processo de evisceração e congelação de polvo.....	51
Figura 4.2 — Delineamento experimental.....	52
Figura 4.3 — Pesagem do polvo após a descongelação.....	54
Figura 4.4 — Potenciómetro com eléctrodo de punção.....	54
Figura 4.5 — Interior da estufa com as placas de Petri e vareta preparadas.....	55
Figura 4.6 — Carbonização com o bico de Bunsen.....	56
Figura 4.7 — Células de Conway.....	57
Figura 4.8 — Fotómetro de chama de emissão.....	58
Figura 4.9 — Espectrofotómetro Shimadzu, UV-160A®.....	58
Figura 4.10 — Corte transversal do braço de polvo.....	59
Figura 4.11 — Texturómetro Model TAHDi®.....	60
Figura 4.12 — Esquema do braço de polvo onde foram efectuadas a medições de punção simples.....	60
Figura 4.13 — Viscosímetro HAAKE VT550®.....	61
Figura 4.14 — Ficha de prova.....	63
Figura 5.1 — Valores médios dos atributos correspondentes ao aspecto visual e parâmetros físicos das amostras.....	85
Figura 5.2 — Valores médios dos atributos correspondentes ao cheiro das amostras....	86
Figura 5.3 — Valores médios dos atributos correspondentes ao sabor das amostras.....	86
Figura 5.4 — Valores médios dos atributos correspondentes ao flavour, persistência e gosto residual.....	89

Figura 5.5 — Valores médios dos atributos das sensações tácteis bucais e parâmetros reológicos das amostras.....	89
Figura 5.6 — Evolução do comportamento dos valores médios da consistência com o tempo de armazenamento em congelação (-18°C).....	91

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 – Composição aproximada (g) e valor energético (kcal/kJ) do polvo (100g de porção edível).....	11
Tabela 3.2 – Lípidos totais, polinsaturados, EPA e DHA no polvo.....	14
Tabela 3.3 – Limites legais (LL), intervalo de valores (RV) para elementos tóxicos, Cd, Pb e Hg em Cefalópodes eviscerados.....	16
Tabela 5.1 – Controlo de receção de matéria-prima na fábrica de congelados.....	65
Tabela 5.2 – Quebras durante a descongelação (exsudados).....	66
Tabela 5.3 – Composição Química do Polvo Congelado em g/ 100g de parte edível...68	
Tabela 5.4 – Resultados das medições de pH.....	70
Tabela 5.5 – Resultados de ABVT.....	72
Tabela 5.6 – Capacidade de Retenção de Água após a descongelação.....	73
Tabela 5.7 – Minerais (Na e K) expresso em mg/100g de parte edível do polvo.....	75
Tabela 5.8 – Quantidade total de iões Cl^- expressa em percentagem de cloreto de Sódio.....	76
Tabela 5.9 – Quebras no tratamento térmico de polvo.....	78
Tabela 5.10 – Parâmetros da CIElab da cor, cromaticidade, tonalidade, ΔE^*	79
Tabela 5.11 – Medidas de punção simples.....	81
Tabela 5.12 – Medidas de resistência ao corte (força de corte).....	82
Tabela 5.13 – Atributos da ficha de prova.....	84
Tabela 5.14 – Parâmetros reológicos das dispersões proteicas de polvo congelado para diferentes tempos de armazenamento em congelação.....	90
Tabela 5.15 – Evolução do teor de malonaldeído com o tempo de armazenamento em congelação (-18°C).....	93

1. Introdução

1.1 Considerações gerais sobre o sector das pescas em Portugal

Portugal possui uma zona económica exclusiva de cerca de 1700000 km^2 e uma linha de costa de 2830 km; a pesca e o consumo de pescado em Portugal revestem-se de uma enorme importância socio-económica (DGPA, 2007a; DGPA, 2007b).

A pesca em Portugal, continua a constituir a principal actividade económica de muitas comunidades ao longo da costa, funcionando como um importante factor de fixação das populações, existindo ao longo da costa muitas comunidades cuja actividade principal é a pesca (DGPA, 2007a).

A produção portuguesa é insuficiente face aos elevados níveis de consumo; dentro da União Europeia, Portugal é o País com o consumo *per capita* de pescado mais elevado, cerca de 57 kg/ano, consumo este que o coloca em 3º lugar a nível mundial, depois do Japão e da Islândia (DGPA, 2007b). Um estudo realizado por Cardoso *et al.* (2013), sobre preferências e padrões de consumo de pescado na população Portuguesa, revelou que o pescado selvagem é preferido face ao de aquacultura, assim como o pescado gordo ao magro. O pescado refrigerado é mais preferido, em relação ao congelado, salgado, de conserva e fumado. Os homens consomem mais cefalópodes e sardinha e as mulheres consomem com maior frequência a pescada, a abrótea e o redfish.

Segundo o Decreto-Lei nº 37/2004, o pescado ou produto da pesca é definido como todos os animais ou partes de animais marinhos ou de água doce, incluindo as suas ovas e leitugas, com exclusão dos mamíferos aquáticos, das rãs e dos outros animais aquáticos abrangidos por regulamentação comunitária específica.

Na categoria de peixes marinhos destacam-se, entre as espécies mais importantes no continente, a sardinha (*Sardina pilchardus*), o carapau (*Trachurus trachurus*), o peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*) e o crustáceo gamba-branca (*Parapenaeus longirostris*). Nos cefalópodes, o polvo (*Octopus vulgaris*) ocupa lugar de destaque, e nos bivalves a amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*), via aquicultura extensiva, e o berbigão (*Cerastoderma edule*), via captura, mantêm-se como as espécies mais relevantes (Arruda *et al.*, 2011).

Em 2011 foram capturadas pela frota portuguesa 216 425 toneladas de pescado, das quais 164 236 toneladas correspondiam a pescado fresco ou refrigerado, transacionado em lota, representando um decréscimo de 1,2% em volume relativamente

ao ano 2010. A quebra registada a nível nacional deve-se à menor captura de moluscos (-24,7%) sobretudo pelo menor volume de polvos (-31,9%) (INE, 2012).

No ano 2010, a produção conjunta de “congelados”, “secos e salgados” e “preparações e conservas” totalizou 225 mil toneladas, das quais foram vendidas 190 mil toneladas, isto é, cerca de 84% da produção nacional. Os “congelados” (122 mil toneladas) registaram um aumento de 11,3%, devido à subida significativa do volume de produção de “sardinha” e de “bacalhau” congelados. As saídas de “moluscos, vivos, frescos, refrigerados, congelados” para os mercados externos registaram um crescimento anual acentuado em 2011 (19% do valor total das saídas) (INE, 2012).

A abertura aos mercados europeus e internacionais trouxe para Portugal um grave problema, uma vez que a produção só é capaz de cobrir cerca de metade da procura deste mercado e as importações são a alternativa frequente (Arruda *et al.*, 2011).

Portugal aumentou a importação de pescado, sobretudo congelado, sendo esta, tanto em volume como em valor, superior à exportação: este saldo negativo apresenta tendência para se agravar. Em 2011, os “peixes congelados” permaneceram como o principal grupo proveniente dos mercados externos (peso de 22,2%), apesar da diminuição face a 2010; os “moluscos, vivos, frescos, refrigerados, congelados” tiveram um peso de 14%. Quanto à sua origem, Espanha é o principal fornecedor de peixe congelado (51%), de peixe fresco ou refrigerado (59,1%) e de moluscos vivos, frescos, refrigerados e congelados (51,8%) (INE, 2012).

Marrocos é o principal abastecedor mundial de polvo, seguido de perto pela Mauritânia. As oscilações no preço do polvo procedente de Marrocos e da Mauritânia influenciam consideravelmente as exportações nos restantes países (Ameiro, 2011). Segundo os dados da FAO (2012b), as populações de *Octopus vulgaris* e *Sépia spp.*, com importância comercial, estão sobre-exploradas. Por exemplo, no Atlântico centro-oriental 43% das populações de polvo avaliadas estão plenamente exploradas, 53% estão sobre-exploradas e 4 % não estão plenamente exploradas.

1.2 Indústria transformadora de produtos congelados em Sines

Relativamente, à distribuição regional das capturas de pescado fresco ou refrigerado no ano de 2011, em termos do volume de descarga, o Alentejo, pela Lota de

Sines, ocupou a sexta posição (5,7%); o polvo constituiu o terceiro pescado mais capturado, 202 toneladas, logo a seguir à sardinha e à cavala (INE, 2012).

Apesar da quebra na captura de polvo a nível nacional, a indústria transformadora de pescado em Sines tem recorrido a matéria-prima do exterior, mais propriamente, o polvo originário do Pacífico Nordeste. Assim, este trabalho centrou-se na avaliação de qualidade do polvo congelado proveniente de duas zonas de pesca distintas, sendo o polvo Nacional processado enquanto fresco/refrigerado e o polvo do Pacífico a partir do estado congelado.

Na zona industrial ligeira de Sines existem duas fábricas de pescado congelado, Laranjinha Lda e a Friplex-Sociedade de Conservação e Comércio de Peixe Lda. A Laranjinha Lda, foi fundada em 1977, fruto dos conhecimentos e da experiência das primeiras gerações da família. Começou pela distribuição regional de pescado fresco, passou pela captura usando barcos próprios dedicando-se actualmente à congelação, transformação e distribuição de peixe fresco e congelado. Os produtos congelados comercializados pela empresa são na sua maioria de origem Portuguesa. O projecto de modernização e expansão da unidade existente tem sido contínuo desde o ano 1999/2000. Passando a dispor de uma boa capacidade de congelação diária, podendo esta ser feita a um ritmo de 5 toneladas/hora, sendo que, no tanque de salmoura a capacidade de congelação é de 4 toneladas/h. Dispõe ainda de uma capacidade de armazenagem de 500 toneladas (Laranjinha, 2009).



Figura 1.1 — Fábrica de pescado congelado, Laranjinha (Laranjinha, 2009).

A Friplex foi fundada a 22 de Julho de 1974. A primeira actividade da empresa baseava-se apenas no fabrico e na venda de gelo. Em 1978, a Friplex deixa de fabricar gelo e inicia a actividade na venda de sardinha e cavala, para isca. Mais tarde, em 1992, com ajuda de fundos comunitários, a firma reestruturou-se, (com mais empregados

qualificados formados pelo centro de emprego) adquiriu novas máquinas, e ampliou as instalações, com a construção de um armazém na Zona Industrial de Sines.



Figura 1.2 — Fábrica de pescado congelado, Friplex (Friplex, 2012)

A empresa começou a apostar na exportação de pescado, nomeadamente, o polvo congelado para Newark nos Estados Unidos da América. Com o apoio do IAPMEI a empresa aproveitou as antigas instalações e virou-se para a venda directa ao público de peixe congelado (Friplex, 2012).

2. Objectivos

O objectivo deste trabalho foi de avaliar a qualidade de polvos congelados, de distintas zonas pesqueiras e sujeitos a duas técnicas diferentes de congelação, fazendo uso de indicadores de qualidade, após o ciclo de congelação.

Os objectivos específicos são:

1) Caracterizar o polvo congelado do Atlântico Nordeste e Pacífico Nordeste com respeito à composição química;

2) Avaliar a qualidade de polvos congelados (indicadores sensoriais e físico-químicos) de diferentes zonas de pesca, Atlântico e Pacífico Nordeste, submetidos ao método de congelação, por ar forçado, em túnel estático, quando a matéria-prima é fresca/refrigerada, submetida a semi-descongelação e posterior recongelação em túnel estático;

3) Monitorizar a estabilidade do polvo durante a armazenagem em congelação, quando sujeito a vários ciclos de congelação.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Caracterização do polvo

A Charles Darwin associamos por norma, tartarugas, tentilhões, e as Ilhas Galápagos, mas foram os moluscos — polvos e vinagreiras (*Aplysia*) — os primeiros animais que verdadeiramente impressionaram Darwin aquando da escala do «Beagle», em Janeiro de 1832, na Ilha de Santiago em Cabo Verde. Darwin ficou surpreendido com a capacidade dos polvos mudarem de cor, tendo mesmo comparado estas criaturas a camaleões; igualmente com a capacidade natatória e defensiva destas criaturas, que libertavam uma tinta escura quando molestadas (Malaquias, 2009).

A classe *Cephalopoda* compreende cerca de 700 espécies distribuídas em 14 géneros e 45 famílias. Os grupos de cefalópodes com maior interesse do ponto de vista comercial compreendem os octópodes (polvos) e os decápodes (chocos, lulas e potas) (Leite *et al.*, 2006).

No litoral de Portugal continental as espécies de polvos bentónicos conhecidas são: polvo-comum (*Octopus vulgaris*); polvo-malhado (*Octopus macropus*); polvo-hialino (*Octopus salutii*); polvo-patudo (*Octopus defilipii*); polvo-do-alto ou polvo-cabeçudo (*Eledone cirrhosa*); polvo-almiscarado (*Eledone moschata*). Além das espécies indicadas, é possível que algumas espécies de polvos pelágicos ocorram no litoral, quando arrastadas pelos ventos para a costa. São elas: polvo-de-véu (*Tremoctopus violaceus*); polvo-de-ventre-rugoso (*Ocythoe tuberculata*); argonauta (*Argonauta argo*) (Gonçalves, 2012).



Figura 3.1 — Polvo fresco, capturado na costa de Sines, Atlântico Nordeste; Ciclo de vida do polvo (Martins, 2009).

A espécie *Octopus Vulgaris* corresponde a 95% das ocorrências no nosso litoral (Figura 3.1). Os indivíduos normalmente encontrados têm cerca de 2-3kg. A sua

coloração é muito variável (cinzenta, castanha ou avermelhada) e apresenta um padrão mosqueado ou reticulado. O 3º par de braços (a contar das zona dos olhos) é o maior e, tal como acontece com todas as espécies do género *Octopus*, cada braço apresenta duas fiadas de ventosas. Atrás da cabeça, directamente oposto aos tentáculos, está o manto. O manto é uma estrutura altamente musculosa que abriga todos os outros órgãos do animal. Possui três corações, sistema digestivo e glândulas reprodutivas, todos comprimidos dentro desse espaço. Os fortes músculos do manto protegem os órgãos e ajudam na respiração e contracção. O polvo possui também um sifão, abertura tubular que serve de passagem à água. Para além disto, a espécie caracteriza-se por possuir, geralmente, 7 a 9 lamelas branquiais (Gonçalves, 2012).

A maioria dos polvos são capazes de libertar uma densa nuvem de tinta, que os ajuda a escapar dos predadores. Estas secreções são compostas por aminoácidos livres (ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina e lisina) e amoníaco em concentrações milimolares (Derby *et al.*, 2007).

O polvo-comum põe mais de 500 000 ovos em locais abrigados (Figura 3.1). Após a postura a fêmea proporciona cuidados exclusivos aos ovos durante a incubação, protegendo-os dos predadores. Ao dar-se a eclosão a fêmea morre de inanição e exaustão, tendo reutilizado parte significativa da proteína muscular para sobreviver sem se alimentar durante a guarda. A variação das condições ambientais, provoca a ocorrência de períodos de crescimento acelerado alternados com fases de crescimento mais lento, sendo cada fase de aceleração menos acentuada que a precedente, à medida que vão adquirindo dimensões maiores. As condições ambientais, principalmente a temperatura, fazem variar o ritmo de crescimento entre indivíduos da mesma idade. São animais com um ciclo de vida curto: cerca de doze meses (Pereira *et al.*, 2006).

A sua dieta alimentar integra uma grande variedade de presas, com especial destaque para os crustáceos, moluscos e peixes (Leonardo, 2010). O metabolismo dos cefalópodes é baseado nas proteínas, podendo a capacidade de assimilar proteína aproximar-se de 100%. O rápido crescimento está relacionado com o aumento da síntese de proteínas e com o decréscimo na degradação de proteínas, ou seja, com o aumento da eficiência na retenção de proteína sintetizada (Carter, 2009). A facilidade de manutenção em cativeiro, o elevado preço no mercado e as elevadas taxas de crescimento e de conversão de alimento justificam o cultivo comercial de polvo (Prato *et al.*, 2010). Na última década do século XX aumentou o interesse pelo cultivo de

Octopus vulgaris no noroeste de Espanha, onde se realiza a engorda em tanques e jaulas flutuantes (Martins, 2009).

3.2 Artes de pesca para a captura de polvo

Os relatos mais antigos do comportamento e captura de polvo remontam à época das navegações fenícias e gregas ao largo do mediterrâneo que, ao resgatarem ânforas de embarcações naufragadas nos portos, efectuaram provavelmente a primeira pesca de polvo (Saura, 2008).

Durante a segunda metade do século XX, os cefalópodes foram considerados fontes menos convencionais, e consequentemente a captura destas espécies foi recomendada como uma forma de diversificar os esforços pesqueiros. Os desembarques aumentaram e a pesca de cefalópodes está entre os poucos produtos de pesca com maior potencial para expansão (Arvanitoyannis *et al.*, 2009b).

Na captura de polvo são utilizadas, principalmente, artes de pesca tradicionais como os alcatruzes e os covos, cujo desenho é baseado no seu comportamento; são consideradas artes de pesca passiva (Direcção-Geral de Recursos naturais, 2012).



Figura 3.2 — Artes de pesca para captura de polvo: alcatruzes e covos. (Direcção-Geral de Recursos naturais, Segurança e Serviços Marítimos, 2012).

O “alcátruz” é uma arte de pesca usada especificamente para a pesca do polvo, baseada no conhecimento do comportamento do animal que é muito territorial e “eremita”, usando o alcátruz como casa ou “ninho”. Esta arte está regulamentada pela Portaria n.º 296/94, de 17 de Maio, que actualiza a legislação nacional em vigor no que respeita a zonas e períodos de proibição de pesca e pela Portaria n.º 774/2009, de 21 de Julho, que aprova o Regulamento da Pesca por Arte de Armadilha. Outro tipo de arte de pesca também utilizada para a captura de polvo, mas não exclusivamente, é o “covo”,

armadilha de forma meio-cilíndrica, feita com uma armação de ferro coberta por uma rede plástica com uma abertura (“andiche”) e um pequeno compartimento para colocar o isco. Os covos são iscados, dependendo a escolha do isco da espécie alvo, que no caso do polvo são a sardinha e a cavala (Figura 3.2).

Além das armadilhas de abrigo e de gaiola, a legislação prevê ainda o uso de armações, armadilha fixa de grande extensão, constituída por redes verticais sustentadas por estacas, bóias, cabos e âncoras, constituindo uma série de canais, barreiras e câmaras através das quais os peixes são conduzidos até ao corpo, que se destina à captura de atuns e corvinas (Direcção-Geral de Recursos naturais, 2012).

A captura de polvo no Pacífico Nordeste também é feita com armadilhas. A Figura 3.3 mostra os “potes” de madeira, em forma de paralelepípedo utilizados na sua captura. A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO, 2012a) criou diferentes zonas de pesca e atribuiu-lhes uma numeração. O número e o nome da zona indicado no rótulo da embalagem permitem aferir com exatidão, a proveniência do pescado; os números 27 e 67 correspondem às zonas, Oceano Atlântico Nordeste e Oceano Pacífico Nordeste, respectivamente.



Figura 3.3 — Potes; pote de madeira com um polvo gigante (Connors *et al.*, 2011).

3.3 Composição química e valor nutricional do polvo

O conhecimento da composição aproximada do pescado é a chave para avaliar o seu valor nutricional. A composição química dos cefalópodes está dependente, por exemplo, das espécies, da idade, do *habitat*, da reprodução e da época do ano (Ozogul *et al.*, 2008; Vasconcelos *et al.*, 2010). O Polvo é uma espécie de elevado valor nutricional, constituído principalmente por água, proteína e baixo teor em gordura (Tabela 3.1). O facto de ser desprovido de esqueleto (sem concha), faz com que

apresente partes edíveis (80-85% de todo o corpo) superiores à dos crustáceos (40-45%), teleósteos (40-75%) e peixes cartilagíneos (25%) (Leonardo, 2010).

Tabela 3.1 — Composição aproximada (g) e valor energético (kcal/kJ) do polvo (100g de porção edível). (Nunes *et al.*, 2008).

	Água	Proteína	Lípidos	Minerais	Energia
Polvo	83,1	15,6	1,2	0,9	73/306

3.3.1 Água

A água é o constituinte mais abundante no músculo do pescado que pode variar normalmente entre 50-85% (Nunes *et al.*, 2008).

Dentro da mesma espécie a quantidade de água e gordura estão inversamente relacionadas; os conteúdos em lípidos e proteínas correlacionam-se positivamente em pescado imaturo, mas negativamente em pescado grande e mais velho (Tobin *et al.*, 2006).

A água tem um papel importante como solvente de solutos orgânicos e inorgânicos, é uma parte integrante na maioria das reacções, tendo um grande impacto na conformação e funcionalidade das proteínas (Lourenço, 2011).

No músculo, as moléculas de água podem estar fixadas por forças electrostáticas, principalmente às moléculas proteicas (água ligada). Cerca de 70% da água encontra-se dentro de espaços miofibrilares, 20% no sarcoplasma e 10% no tecido conjuntivo. É provável que o músculo retenha água sob três formas: água associada aos grupos hidrofílicos activos das proteínas miofibrilares, água imobilizada e água livre localizada entre as fibras musculares e o tecido conjuntivo (Ferro Palma, 2011; Pearce *et al.*, 2011).

A alteração da capacidade de retenção de água no pescado (CRA), que começa no *post mortem* e prossegue nas várias etapas de manipulação e processamento (refrigeração, processo de congelação), constitui um indicador muito sensível relativamente à estrutura das proteínas miofibrilares do pescado, o que influencia directamente a qualidade do mesmo (Honikel, 2009).

3.3.2 Proteínas e compostos de azoto não proteico

O pescado possui 17-22% de proteínas totais. Os crustáceos e os cefalópodes apresentam valores ligeiramente superiores. Os compostos de azoto não protéicos no músculo de pescado, podem influenciar a palatabilidade. O teor de azoto não proteico (NPN) é normalmente mais elevado no pescado do que nos animais terrestres, e varia entre 10 e 40%. O NPN contém aminoácidos, pequenos péptidos, óxido de trimetilamina (TMAO), trimetilamina, creatina, creatinina e nucleótidos. O camarão, lagosta, caranguejo, lulas e polvos geralmente contêm maiores quantidades de aminoácidos do que o pescado ósseo, dos quais se destacam: ácido glutâmico, arginina, glicina, alanina. Por exemplo, os valores mais elevados destes aminoácidos durante o inverno tornam as lulas mais saborosas, em comparação com as capturadas no verão (Venugopal, 2008).

Colectivamente, as proteínas influenciam todos os atributos sensoriais do pescado (cor, flavour, textura), e a deterioração pós-captura. As proteínas no tecido muscular do pescado podem ser divididos nos seguintes grupos (Venugopal, 2008):

- i) proteínas estruturais (por exemplo: actina, miosina, paramiosina, tropomiosina), as quais contribuem com cerca de 70-80% do total de proteínas;
- ii) proteínas sarcoplasmáticas (hemoglobina, mioglobinas, enzimas), contribuem com 25-30% da proteína total;
- iii) proteínas do tecido conjuntivo (colagénio e elastina), contribuem aproximadamente com 3% da proteína total para os peixes teleósteos e atinge 10% nos cartilagíneos.

As proteínas dos produtos da pesca têm um elevado valor biológico, porque possuem todos os aminoácidos essenciais e também são reconhecidas pela sua grande digestibilidade. Desempenham um papel chave no crescimento e manutenção das funções vitais do organismo (Nunes *et al.*, 2008).

A paramiosina é uma proteína encontrada unicamente nos músculos estriados de invertebrados e está envolvida na contracção muscular dos bivalves. Os conteúdos de paramiosina em vieiras, lulas e ostras são 3, 14, e 19%, respectivamente (Venugopal, 2008).

3.3.3 Lípidos

A fracção lipídica no polvo é a mais variável de todas, com destaque para a sazonalidade, área geográfica e tipos de músculo (Ayas, 2012). Os lípidos funcionam como reserva de energia, pelo que, nas épocas de abundância alimentar são acumulados, sendo utilizados nas épocas de alimentação menos abundante. Surge assim a classificação em peixes gordos ($> 5\%$), semi-gordos ou intermédios (entre 2 e 5 %) e magros ($< 2\%$), nem sempre exactamente com estes valores. Nos peixes magros, os lípidos são acumulados principalmente no fígado; nos gordos, entre as camadas musculares e sob a pele. Os crustáceos e moluscos, têm normalmente 1%-2% de lípidos (Vaz-Pires, 2006a). De acordo com Ayas (2012), o teor de lipídios varia de 0,75% a 1,60% em ambos os tipos de músculo do polvo, pelo que, o polvo é considerado um pescado magro.

O músculo vermelho ou escuro do pescado é mais gordo do que o branco. Esta diferença na composição lipídica está relacionada com a adaptação biológica das espécies; o músculo branco é utilizado, particularmente em movimentos bruscos, enquanto que o escuro é usado nos movimentos constantes (Kolakowska, 2011).

Os lípidos presentes no pescado podem ser divididos em dois grupos principais: os fosfolípidos e os triacilgliceróis. Os fosfolípidos compõem a estrutura integral das membranas celulares e organelos, frequentemente chamado de lípidos estruturais. Os triacilgliceróis são lípidos utilizados para armazenagem de energia em depósitos de gordura, geralmente dentro de células de gordura especiais rodeadas por uma membrana de fosfolípidos e uma rede de colágeno bastante fraca (Lourenço, 2011).

Com o aumento da quantidade de lípidos, a proporção de triglicéridos aumenta e a de fosfolípidos decresce. Assim, os lípidos do pescado magro consistem principalmente em fosfolípidos, os quais podem corresponder a mais de 80% do total de lípidos, no caso do bacalhau. O conteúdo lipídico do pescado apresenta uma larga variedade de ácidos gordos saturados (SFA), monosaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA), dos quais se salientam os da série omega-3 de cadeia longa (LC n-3 PUFA) que representam até 40% do total destes ácidos gordos (Kolakowska, 2011). Na tabela 3.2 indicam-se os valores dos lípidos e polinsaturados totais e omega-3 para o polvo.

Tabela 3.2 — Lípidos totais, polinsaturados, EPA e DHA no polvo (Nunes *et al.*, 2008).

Pescado	Lípidos Totais	Polinsaturados	Ácidos gordos (ômega-3)	
			EPA	DHA
Polvo	1.2	0.6	0.2	0.3

O pescado é a única fonte alimentar que contém quantidades substanciais de LC n-3 PUFA em especial dos ácidos docosahexaenóico (DHA) e eicosapentaenóico (EPA). A proporção de EPA é mais elevada nos crustáceos, cefalópodes, bivalves e gastrópodes, do que no peixe magro (peixes teleósteos e cartilagíneos) (Kolakowska, 2011).

Diversos estudos têm mostrado que os ácidos docosahexaenóico e eicosapentaenóico parecem ter um papel importante na diminuição do nível de colesterol no sangue e na prevenção de arritmias e da formação de trombos, estando por isso o seu consumo fortemente associado a um risco reduzido de doença cardiovascular (Hsieh *et al.*, 2010).

3.3.4 Hidratos de Carbono

Os hidratos de carbono têm por função servir como rápida fonte de energia (4 cal/g), em especial para o músculo e para o cérebro, estando presentes em quantidades muito reduzidas no pescado. Em moluscos como o mexilhão, a percentagem de hidratos de carbono situa-se entre 1 e 3 %, mas nos peixes é sempre muito mais reduzida, concentrando-se no fígado na forma de glicogénio (Vaz-Pires, 2006a).

3.3.5 Vitaminas

O pescado não é considerado uma importante fonte de vitaminas e o seu conteúdo é específico de cada espécie. Elas podem variar consideravelmente dentro de uma espécie com a idade, o tamanho, o sexo, a estação, dieta e o estado de saúde e localização geográfica (Lourenço, 2011). As vitaminas, principalmente as lipossolúveis A e D, também estão presentes, normalmente no fígado do pescado; as hidrossolúveis são mais resistentes à degradação, e por isso também aos processos culinários, sendo muito variável a sua presença no pescado (Vaz-Pires, 2006a).

Os peixes, em especial os peixes gordos, constituem uma importante fonte das vitaminas lipossolúveis A e D, que apresentam diversas funções no nosso organismo, nomeadamente no desenvolvimento e manutenção de vários sistemas/órgãos, dos quais são exemplo os olhos, os pulmões, a pele, os ossos, entre muitos outros. A vitamina E, outra das vitaminas lipossolúveis também com elevada capacidade antioxidante e actividade anti-inflamatória, pode igualmente ser encontrada em quantidades consideráveis nalgumas espécies de pescado, como por exemplo, o salmão, a sarda, cherne e algumas espécies de marisco. Quanto às vitaminas hidrossolúveis, os peixes constituem boas fontes de vitaminas do complexo B, nomeadamente da tiamina (B1), da riboflavina (B2), da piridoxina (B6) e da cobalamina (B12) (Kim, 2009).

3.3.6 Minerais

Os sais minerais mais importantes no músculo do pescado são o P, K, Na, Ca, Mg, S, Cl, Fe, Cu, Mn, Mo, Zn, N e Co; os peixes marinhos têm ainda Br e I. Possuem função plástica e auxiliam a acção das vitaminas, enzimas e hormonas (Vaz-Pires, 2006a). Enquanto os cinco macro elementos, K, Na, Cl, Mg e Ca, estão presentes na unidade g/kg de pescado, os restantes elementos ocorrem no pescado em muito mais baixa concentração na ordem das mg ou µg por quilograma de pescado, como os oligoelementos, Cu, Fe e Zn e os ultra oligoelementos como o F, I, Se, Si, Mn, Mo, Co, Cr, V e Ni (Lourenço 2011).

Os cefalópodes são carnívoros, predadores activos e têm elevadas taxas de alimentação, sendo a maior parte dos elementos incorporados na dieta (Villanueva *et al.*, 2006). O que explica os elevados valores de quase todos os elementos essenciais, particularmente no caso dos polvos que se alimentam de crustáceos, que são ricos nesses elementos. Ao contrário do peixe, o K nos cefalópodes é baixo, e no caso dos polvos, encontra-se abaixo do nível de Na (Lourenço *et al.* 2009; Lourenço, 2011). Assim, a razão (Na/K) no polvo é muito alta cerca de 2.6, o qual pode ser visto como um aumento do risco de desenvolvimento de doença cardiovascular e hipertensão (Astorga España *et al.*, 2007).

Na ingestão de 160g de polvo a contribuição em elementos essenciais para a DDR em adultos (dose diária recomendada, mg/dia) é de 7,6% de K, 61,1% de Na e 55,9% de Cl, respectivamente. Por outro lado, alguns elementos como o cádmio (Cd),

chumbo (Pb) e mercúrio (Hg) não mostram nenhuma função conhecida que seja essencial para a vida e são tóxicos, mesmo quando presentes em baixas concentrações. Estes elementos podem ser assimilados, armazenados e concentrados pelos organismos vivos, através da cadeia alimentar, originando efeitos fisiológicos graves (Lourenço, 2011).

As maiores concentrações de metais foram encontradas, principalmente, nas glândulas digestivas de cefalópodes; as partes musculares, isto é, braços e manto, são os mais comumente ingeridos pelos humanos e a quantidade total de elementos tóxicos nestes tecidos pode tornar-se significativa (Tabela 3.3). O alto teor de Cd acumulado nas glândulas digestivas prova que o polvo é um importante vector deste elemento para os seus predadores no ambiente costeiro (Raimundo *et al.*, 2008; Raimundo *et al.*, 2010). O polvo é um potencial bioindicador de contaminação (Pimenta, 2010). A acção conjunta de biomarcadores (enzimas antioxidantes) no “stress” oxidativo correlaciona-se com o teor de metais, Cu, Zn, Pb, Cd e As, nos braços e na glândula digestiva, do *Octopus vulgaris*. O polvo tem a capacidade de controlar os danos oxidativos ao desencadear respostas coordenadas de enzimas antioxidantes na glândula digestiva (Semedo *et al.*, 2012).

Tabela 3.3 – Limites legais (LL), intervalo de valores (RV) para elementos tóxicos, Cd, Pb e Hg em Cefalópodes eviscerados (Lourenço, 2011).

Cefalópodes (eviscerados)	Cd		Hg		Pb	
	LL ^a	V ^b	LL ^a	V ^b	LL ^a	V ^b
	1.0	0,38	0.50	0,13	1.0	0,02

^a Limites legais propostos pela EU (2006,2008) (mg/Kg); ^b - valores expressos em mg/Kg (Lourenço, 2011).

As recomendações gerais para o consumo de cefalópodes apontam para que não se excedam quatro refeições por semana, em cefalópodes (lula, choco, polvo), devido aos elevados níveis em cádmio e mercúrio. Não esquecendo no entanto os benefícios do seu consumo: baixa gordura, baixo nível calórico, altos níveis de S, P, Mg, Zn e Cu, e baixos níveis de Pb (Lourenço, 2011).

3.4. Degradação do pescado fresco

3.4.1 Alterações *post-mortem*

Entende-se por pescado fresco, os animais subaquáticos (peixes, crustáceos, moluscos, equinodermes, e ciclóstomos) que não tenham sofrido desde a sua captura

qualquer operação de conservação, excepto refrigeração ou conservação a bordo, em água do mar ou em salmoura (Decreto-lei N°81/2005).

Os produtos da pesca ou pescado são muito perecíveis em comparação com outros produtos de origem animal, devido, não só às suas características intrínsecas (elevada percentagem de água, o tipo de proteínas, a presença de muitos compostos azotados de baixo peso molecular, alto teor de ácidos gordos insaturados e a presença de flora bacteriana de natureza psicrófila) mas também, ao seu *habitat* natural. A degradação do pescado é um fenómeno complexo, com um número muito elevado de acontecimentos diferentes a ocorrer em simultâneo e a influenciar-se mutuamente (Ciência Viva, 2007; Vaz-Pires, 2006a).

3.4.2 Alterações sensoriais

As primeiras alterações sensoriais do pescado durante o armazenamento estão relacionadas com o aspecto e a textura. Numa primeira fase, após a morte, o músculo do peixe mantém a flacidez e a textura é firme e elástica ao tacto, durante períodos variáveis. A esta fase, normalmente designada por *pre rigor*, segue-se uma segunda que é caracterizada por um endurecimento do músculo e por um desvanecimento do cheiro característico (Nunes *et al.*, 2007).

O *rigor mortis* é um período de contracção muscular que se manifesta em tecidos musculares após a morte e de forma muito evidente no pescado. O processo de *rigor* consiste na ligação irreversível e desordenada das principais proteínas contrácteis, actina e miosina (formando-se o complexo actomiosina), provocada pela diminuição dos níveis de ATP e pelo aumento dos iões cálcio no sarcoplasma. Este processo altera as propriedades das proteínas e, consequentemente, a textura do músculo, que se torna duro, rígido e inextensível (Kolbe *et al.*, 2007; Tejada, 2009).

O intervalo que decorre entre o início (instalação) e a resolução do *rigor mortis* varia de espécie para espécie e apresenta uma grande variabilidade entre indivíduos, porque depende da velocidade das várias reacções bioquímicas que ocorrem nos músculos (Kato *et al.*, 2009). Os factores que exercem influência neste intervalo são os factores intrínsecos (tamanho, condições físicas do peixe, condição nutricional, “stress”, sexo, época de desova) e extrínsecos (método de pesca, método de abate, localização da captura, estação do ano, o manuseamento a bordo, as condições de higiene a bordo do navio de pesca, processamento e condições de armazenamento). O início do *rigor* depende da temperatura do peixe, em particular entre a temperatura da água e a do

armazenamento. Quanto maior for a diferença, mais curto será o tempo entre a morte e o *rigor* e vice-versa (Esteves *et al.*, 2007; Vaz-Pires, 2006a).

O prolongamento do *rigor mortis* reveste-se de especial importância pelo papel que desempenha na frescura e na qualidade do pescado, bem como nas suas potencialidades tecnológicas (Moraes, 2007).

Em geral, o músculo dos peixes contém um nível de glicogénio relativamente baixo, em comparação ao dos mamíferos. Assim, depois da morte, forma-se menor quantidade de ácido láctico, pelo que o valor de pH desce pouco. O polvo, o pescado branco selvagem e o pescado de aquacultura possuem reduzidos teores de glicogénio (<0,4%); deste modo, os valores de pH *post mortem* encontram-se no intervalo 6,0-6,5 (Kato *et al.*, 2009).

À medida que o pH decresce, ocorre uma desnaturação parcial das proteínas e estas perdem a capacidade de retenção da água, afectando a textura, a suculência, a cor e o sabor da carne (Ferro Palma, 2011). Como efeito desejável tem-se a diminuição do crescimento bacteriano, pelo que interessa que haja um equilíbrio entre estes dois efeitos, provocados pelo abaixamento do pH. Este valor vai aumentando gradualmente durante o período de conservação, devido à formação de compostos químicos, em particular compostos azotados, como resultado das reacções autolíticas e bacterianas (Gonçalves, 2010).

Após a rigidez cadavérica, o músculo torna-se de novo flácido mas sem a elasticidade inicial e há condições para o crescimento logarítmico microbiano e o desenrolar de reacções químicas, detectáveis por simples utilização dos órgãos dos sentidos humanos, a degradação sensorial. O aspecto (por exemplo, a pigmentação e brilho da pele), o cheiro, a textura e o sabor são atributos determinantes para a sua edibilidade (Esteves *et al.*, 2007).

O cheiro a maresia que numa primeira fase era fresco, altera-se devido à presença ou ausência da inosina monofosfato (IMP) e outros nucleótidos. As reacções enzimáticas associadas ao *rigor mortis* envolvem transformações nos nucleótidos (Figura 3.4).

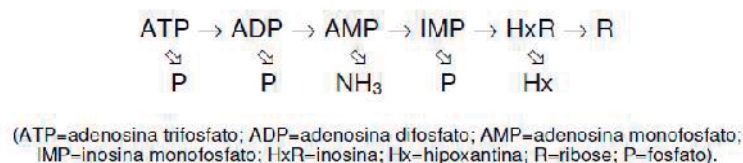


Figura 3.4 — Cadeia mais vulgar de degradação do ATP (Vaz-Pires, 2006).

A ionosina é um pouco insípida, enquanto a hipoxantina dá um sabor amargo ao pescado nos processos de deterioração (Kolbe *et al.*, 2007).

Outro factor que pode produzir alterações no sabor e no cheiro do pescado prende-se com os processos de oxidação. Após o sacrifício, com o colapso dos sistemas antioxidantes no músculo, a deterioração das proteínas e dos lípidos no músculo aumenta com a presença de prooxidantes. Na verdade, a susceptibilidade dos componentes musculares à deterioração oxidativa, é principalmente devida às elevadas concentrações de ácidos gordos insaturados, à presença de pigmentos hémicos e catalizadores metálicos (Estevez *et al.*, 2008).

A oxidação lipídica pode ser incluída, tanto nas alterações químicas como nas alterações sensoriais (Vaz-Pires, 2006a).

3.4.3 Alterações autolíticas

Existem no pescado, antes da morte, mecanismos que os defendem das suas próprias enzimas. Quando o pescado morre tudo se altera, pois a estrutura do tubo digestivo modifica-se, e o sistema imune deixa de funcionar e há invasão de enzimas endógenos para os tecidos circundantes. A este processo de auto-digestão no pescado, chama-se autólise. As alterações autolíticas são muito diversas: degradação de nucleótidos, proteólise e desmetilação do óxido de trimetilamina. Os primeiros processos autolíticos que ocorrem no tecido muscular relacionam-se com os hidratos de carbono e os nucleótidos. Normalmente, coincidindo com a proteólise começa a lipólise das gorduras, libertando-se ácidos gordos, muito importantes em fenómenos posteriores de oxidação (Vaz-Pires, 2006a).

A degradação de ATP faz-se por reacções de desfosforalização e desaminação. Antes do começo do *rigor mortis*, o glucogénio e o ATP quase desapareceram, enquanto se acumula o IMP e posteriormente o HxR. Quando os níveis de IMP e HxR começam a diminuir, o Hx aumenta. A velocidade sequencial na autólise dos nucleótidos depende da espécie. A determinação de hipoxantina no pescado é uma forma de avaliar o grau de frescura do pescado (Concepción Aristoy *et al.*, 2012).

Os processos de autólise são dominantes no início da dinâmica de deterioração do pescado, enquanto que a actividade bacteriana é mais importante no final. Em muitos destes processos estão envolvidas substâncias que derivam da metabolização do azoto. De entre estas substâncias há a salientar o óxido de trimetilamina (OTMA), que pode

ser transformado em trimetilamina (TMA), através da acção bacteriana ou em dimetilamina (DMA) e formaldeído (FA) por influência enzimática (Esteves *et al.*, 2007).

A determinação analítica objectiva que permite avaliar sobre a frescura do produto da pesca é o teor em Azoto Básico Volátil Total (ABVT) que, compreende o amoníaco, a TMA, pequenas quantidades da DMA e metilamina (Ferro Palma, 2011). A Comissão Europeia, através do Regulamento (CE) 1022/2008 que altera o Regulamento (CE) 2074/2005, estabeleceu que a determinação de ABVT deve ser usada na inspecção de pescado, quando a avaliação sensorial suscitar dúvidas sobre o grau de frescura, fixando limites para diferentes grupos de espécies de peixes, que se situam entre 25 – 35 mg N/100 g (CE, 2008).

Segundo, Orban *et al.*, (2011) a sazonalidade e dimensões do pescado influenciam os teores de ABVT durante o armazenamento em gelo. Assim, na estação de Verão, rica em alimento, aumenta a deterioração autolítica no pescado por enzimas proteolíticas digestivas; o pescado de menor tamanho, alcança níveis inaceitáveis nos indicadores de deterioração química mais cedo do que o pescado de maiores dimensões.

Ao contrário dos mamíferos, em que normalmente o período de maturação tem efeitos favoráveis na tenrura da carne, os efeitos de tais processos no pescado são geralmente indesejáveis (perda de firmeza e elasticidade). Estas alterações devem-se à fragmentação parcial das moléculas e à estrutura mais relaxada, resultantes de perdas provocadas por desnaturação (acção de proteases, donde resultam péptidos, aminoácidos e radicais livres), por proteólise (sistemas proteolíticos endógenos: catepsinas que promovem autólise das proteínas miofibrilares; calpaínas compostas por peptidases dependentes do cálcio e collagenases) e por acção de sistemas enzimáticos (Chéreta *et al.*, 2007; Ladrat *et al.*, 2006).

3.4.4 Alterações microbiológicas

No pescado vivo, os microrganismos encontram-se à superfície e no tubo digestivo; o músculo do pescado em condições de saúde normal é estéril. No produto da pesca recém capturado e proveniente de águas limpas, a contaminação microbiana depende principalmente da contaminação e da temperatura ambientais, do método de captura e das condições levadas a cabo na manipulação do produto da pesca a bordo do barco. A manipulação e a deposição em gelo do produto da pesca capturado provocam alterações no número, na distribuição e na composição da sua microflora. O

crescimento bacteriano no produto da pesca pode representar-se geralmente segundo o modelo típico: a fase lag (adaptação ou latência) dura até à instalação do *rigor mortis*. Durante os primeiros dias em gelo, a população concentra-se na superfície. A lenta penetração no tecido muscular efectua-se principalmente em pontos de corte ou de erosão da pele por facilitarem a entrada. Os processos metabólicos da microflora contribuem em parte, para a perda gradual de substâncias saborosas do produto da pesca conservado no gelo e conduzem à decomposição, devido à proteólise parcial com acumulação de metabolitos desagradáveis (Vaz-Pires, 2006a).

As enzimas de origem bacteriana convertem o óxido de trimetilamina em trimetilamina e decompõem os aminoácidos e proteínas, formando amoníaco, sulfureto de hidrogénio e outros compostos indesejáveis característicos da deterioração microbiana. As aminas biogénicas também são produzidas por acção de enzimas bacterianas, sobre aminoácidos livres (histidina, tirosina, triptofano, lisina e outros); a maior preocupação está na formação de histamina (Ozogul, 2009; Prester, 2011). Há poucos trabalhos sobre o teor de aminas biogénicas em cefalópodes como o polvo, a pota e o choco (Prester *et al.*, 2010). A congelação a -20°C pode, efectivamente, prevenir a formação de aminas biogénicas; todavia, a putrescina, a cadaverina, a histamina e a tiramina, aumentam significativamente, durante o armazenamento a 4°C. O crescimento de bactérias mesófilas e psicrófilas no polvo correlacionam-se positivamente com a formação de aminas durante o armazenamento, excepto para a histamina (Hu *et al.*, 2012).

3.4.5 Aspectos particulares da degradação do polvo fresco

Os cefalópodes têm um padrão de degradação, dominado pela autólise, sendo o crescimento bacteriano tardio. Provavelmente, os microrganismos levam tempo para penetrar nas camadas inferiores de tecido. A elevada actividade autolítica (40 a 500 vezes maior do que outras espécies de pescado) produz um aumento dos níveis de azoto derivado do músculo, por conseguinte, favorece a proliferação subsequente de flora microbiana degenerativa e a rápida decomposição (Vaz-Pires *et al.*, 2008). Deste facto advém um tempo de vida útil mais curto no que respeita a características sensoriais. Tendo em conta a inspecção visual, consideram-se 8 dias, com boa conservação em gelo, o período máximo de manutenção das características de frescura que permitem considerá-lo próprio para consumo humano (Leonardo, 2010).

De acordo com Felício (2011) o polvo apresenta um tempo de conservação útil em gelo, curto (6 dias). As primeiras alterações verificam-se ao nível dos olhos e da pele, enquanto as mais tardias ocorrem na textura e na região bucal; a textura e o odor conservam-se por mais tempo nos polvos armazenados com adição de gelo.

O processo de deterioração em cefalópodes também está associado, entre muitas razões menos esclarecidas, com a pele fina e frágil, com a composição nutricional muito mais favorável a degradações enzimáticas e bacterianas (comparando com outras espécies marinhas que contêm em geral 20% mais proteínas, 80% menos cinzas, 50-100% menos lípidos e 50-100% menos hidratos de carbono), com o curto e menos pronunciado *rigor mortis*, e com a degradação autolítica inicial com um período mais longo. Como o início do *rigor mortis* ocorre muito rapidamente, o dia zero, não é considerado um parâmetro útil para ser incluído no método do índice de qualidade (QIM) (Vaz-Pires *et al.*, 2004).

A elevada solubilidade das proteínas miofibrilares do músculo dos cefalópodes, causa perdas no valor nutricional devido à lixiviação de consideráveis quantidades de proteína quando estão em contacto com a água. A lavagem, salga, descongelação em água, refrigeração, etc, necessita de cuidadosa atenção durante o processamento em fábrica, para que a qualidade nutricional e o flavor do produto se mantenham. O músculo dos cefalópodes, em geral, ganha peso quando está em contacto com água fria, mas perde nutrientes, mais rapidamente do que o músculo do pescado ósseo. A presença de cromatóforos na pele (pigmentos) também cria uma série de problemas processuais, principalmente no manuseamento, congelação, refrigeração, descongelação e secagem. Após a morte, os músculos ligados aos cromatóforos não são mais controlados; os cromatóforos permanecem expandidos e os músculos relaxam lentamente, provocando alterações na cor da pele que passa do escuro para o claro, poucas horas após a morte (Arvanitoyannis *et al.*, 2009a).

Sob condições anaeróbicas, o ATP pode ser sintetizado através de outras duas vias importantes; a partir de fosfocreatina ou de fosfoarginina. A segunda fonte é característica de alguns invertebrados, como os cefalópodes. Em ambos os casos, a produção de ATP cessa logo que se esgotam o fosfato de creatina ou o fosfato de arginina. A octopina é o produto final do metabolismo anaeróbico de cefalópodes e não tem natureza acídica (em oposição ao lactato), de modo que, qualquer alteração no pH *post mortem* em tais animais não está relacionada com a produção de ácido láctico a partir de glicogénio (Kato *et al.*, 2009).

3.5 Principais operações no processo de fabrico de polvo congelado

3.5.1 Evisceração/Lavagem

A evisceração, também conhecida por descabeçamento, remove toda o material intestinal. Qualquer produto secundário deste processo que seja adequado para o consumo humano, por exemplo os tentáculos e o manto, devem ser manuseados de forma adequada e higiénica. O método de retirar a pele não deverá contaminar o produto e nem permitir o crescimento de microrganismos; um adequado fornecimento de água do mar ou água potável deverão ser disponibilizadas para a lavagem do produto durante e após o retirar da pele (Arvanitoyannis *et al.*, 2009a).

Um grande número de enzimas proteolíticas encontra-se no músculo e vísceras do pescado, após a captura. Assim que começa o processo de deterioração, devido à actividade autolítica, é importante reduzir a acção das enzimas digestivas para melhorar a conservação do pescado. Isto pode ser conseguido pela remoção de enzimas ou pelo desenvolvimento de técnicas que inibam as suas actividades. A evisceração do pescado imediatamente após a sua captura pode evitar a invasão de proteases, residentes no tracto digestivo, através da cavidade abdominal, para o tecido e prevenir ou desacelerar a deterioração (Ghaly *et al.*, 2010).

A evisceração evita também a migração de parasitas dos intestinos para o músculo. Após a evisceração, o pescado deve ser bem lavado para remover traços de sangue, as bactérias e conteúdo intestinal para fora da cavidade do intestino, pele, e brânquias do pescado (Borderías *et al.*, 2011).

Todavia, a presença de elevado número de microorganismos em amostras de robalo, *Dicentrarchus labrax*, previamente eviscerado quando comparado com o mesmo pescado não eviscerado, poderá estar relacionada com a contaminação cruzada (Erkan *et al.*, 2006).

3.5.2 Refrigeração/Pré-tratamento com sal

A refrigeração, é sem dúvida o método de conservação de pescado base e auxiliar utilizado, até chegar o momento do consumo ou de processamento do pescado na indústria de congelados. O importante é nunca atingir o ponto de congelação de água do pescado, que é muito próximo de $-1,5^{\circ}\text{C}$ (o polvo que apresente valores de 85 e 77% de humidade, tem como ponto inicial de congelação $-0,72$ e $-1,72^{\circ}\text{C}$, respectivamente) (Kolbe *et al.*, 2007). A esta temperatura atrasa-se a degradação do pescado, pois as

enzimas actuam lentamente e o desenvolvimento microbiano é também muito lento (Vaz-Pires, 2006a).

Na pesca artesanal de polvo, a pesca tem normalmente uma duração inferior a 24 horas (junto à costa) e na maior parte das vezes não se recorre à refrigeração ou congelação. Assim, o polvo é transportado sem adição de gelo, em grandes caixas ou baldes (Felicio, 2011). Após a venda em lota, o polvo é colocado em dornas com uma mistura de gelo (fabricado com água potável ou com água do mar) e água do mar, seguindo depois para a indústria transformadora (Vaz-Pires, 2006a).

A água do mar contém cerca de 3g de sal/100ml ($\approx 0,51 \text{ mol/dm}^3$). A concentração de sal na mistura depende da proporção de gelo e água, e varia de barco para barco e de dorna para dorna que chega à lota. O sal na água de refrigeração e o tempo de contacto afectam as forças iónicas no músculo de pescado, especialmente aquele que sofreu danos físicos ao nível da pele (Choi *et al.*, 2008).

As proteínas do bacalhau mostram um aumento de solubilidade (“salting-in”) para concentrações de sal entre 0,3 e 1 mol/dm^3 , seguido pela diminuição acima de 1 mol/dm^3 (“salting-out”), sobretudo, devido à denaturação e agregação proteica (Nguyen *et al.*, 2011). Schimdt *et al.* (2008) verificaram que as amostras de peito de frango imersas em soluções de NaCl até 10% ganhavam água, e em concentrações entre 15% e 20% de sal, as amostras perdiam água.

O pré-tratamento do pescado com sal que conduza a concentrações entre 0,3 e 0,5M, no músculo de pescado resulta numa forte solubilização de proteínas do estroma e miofibrilares. O aumento de volume e distância entre os filamentos reduz a agregação proteica durante o período de “salting-out” e facilita preferencialmente as interações proteína-sal em vez das interações proteína-proteína (Thorarinsdottir *et al.*, 2010; Thorarinsdottir *et al.*, 2011).

3.5.3 Congelação

A congelação é uma operação unitária que consiste em baixar a temperatura do pescado até que, a maior parte da água que o constitui, cristalize. A imobilização da água pelo gelo tem como resultado a concentração de solutos dissolvidos na água não congelada e a diminuição da actividade da água (Delgado *et al.*, 2010). Desta forma, a água, embora esteja presente, encontra-se menos disponível para reacções químicas e biológicas, e os microrganismos não podem desenvolver-se. É um dos métodos que mais prologa o tempo de conservação dos produtos (pode chegar até 2 anos), e é

simultaneamente um método que conserva, de forma notável, as propriedades originais dos produtos (Vaz-Pires, 2006a).

A congelação propriamente dita, envolve três etapas: a primeira consiste no arrefecimento do produto (inicialmente à temperatura de refrigeração) até ao ponto de congelação, em que há libertação de calor sensível; a segunda consiste na eliminação do calor latente de fusão, e a terceira consiste na eliminação do calor sensível desde o ponto de congelação até à temperatura de conservação (Dempsey *et al.*, 2012; Kiani *et al.*, 2011).

Na conversão de água em gelo estão envolvidos factores de natureza termodinâmica e cinética. O processo de congelação compreende duas fases sucessivas: a nucleação e a cristalização (Kiani *et al.*, 2011).

3.5.3.1 Nucleação

A nucleação é o arranjo ordenado de moléculas com dimensões adequadas para manter e servir de local a posterior crescimento de cristais (núcleos de cristalização). Para que a nucleação ocorra, é necessário alcançar temperaturas abaixo do ponto de congelação do alimento, antes da formação de gelo. O subarrefecimento é essencial para vencer a energia livre de superfície que acompanha a formação da nova fase ordenada. A velocidade de nucleação depende da temperatura do meio a congelar, da velocidade de congelação, da viscosidade do sistema e do volume de amostra (Kiani *et al.*, 2011).

Zaritzky (2012) considera a nucleação como um fenómeno estatístico. A probabilidade de ocorrer a nucleação depende do volume da amostra; quando o volume é pequeno a probabilidade de ocorrer nucleação é baixa e são necessárias temperaturas de congelamento mais baixas.

O tipo de nucleação que predomina nos alimentos é a nucleação heterogénea; as interfaces sólidas, as membranas celulares ou os cristais pré-existent, estão envolvidos como superfícies activas na nucleação (Kiani *et al.*, 2011).

3.5.3.2 Cristalização

Enquanto o núcleo de gelo formado for estável, há condições para que cresça por adição de moléculas de água através da interface sólido/líquido. O crescimento de cristais não é instantâneo, mas sim controlado pela velocidade de remoção do calor latente de cristalização. A velocidade de crescimento dos cristais também é uma função do sobrearrefecimento alcançado pelo alimento (Kiani *et al.*, 2011).

O tamanho do cristal varia inversamente com o número de núcleos formados. Para valores altos de subarrefecimento que conduzem a grandes velocidades de congelação, a velocidade de nucleação é mais elevada do que a velocidade de crescimento do cristal e, como consequência, um grande número de núcleos são formados e a massa de gelo é distribuída por muitos e pequenos cristais. Pelo contrário, quando a velocidade de congelação é lenta, poucos núcleos são formados e os cristais tornam-se maiores (Zaritzky, 2012).

3.5.3.3 Alterações físicas e químicas produzidas pela congelação

A existência no músculo de pescado de barreiras ao movimento da água, tais como as membranas celulares, introduz alguma complexidade nos mecanismos de congelação, porque têm que ser tomados em consideração, os meios intracelulares e extracelulares. As membranas celulares agem como barreiras efectivas ao crescimento de cristais a altas temperaturas de subarrefecimento, tais como, as encontradas durante a congelação lenta, enquanto que durante o arrefecimento rápido para temperaturas baixas, de algum modo críticas (próximas de -10°C), as propriedades limitantes das membranas tendem a desaparecer (Zaritzky, 2012).

Assim que a cristalização toma lugar, o meio salino extracelular torna-se concentrado, conduzindo a diferenças no gradiente de pressão osmótica através da membrana celular. Devido a tais diferenças, a água intracelular flui para o meio extracelular (Benjakul *et al.*, 2010).

Os cristais de gelo formados a partir, quer da água intracelular, quer da água extracelular durante a congelação ou armazenamento em congelação, danificam fisicamente as células musculares do pescado. O grau de dano causado no músculo está dependente da localização, do tamanho e da forma dos cristais de gelo, os quais são dependentes da velocidade, do método de congelação, da temperatura de armazenamento, da flutuação de temperaturas, da desidratação durante o armazenamento prolongado, do estado fisiológico do músculo e dos aditivos (Benjakul *et al.*, 2010; Drummond *et al.*, 2009; Kaale *et al.*, 2013).

Quanto mais rápida for a cristalização, melhor é a qualidade do produto final: os cristais de gelo formados serão pequenos e em grande número, igualmente distribuídos (intra e extracelular) e haverá uma menor deslocação da água. Pelo contrário, quanto mais lenta for a cristalização, maiores serão os cristais de gelo e maior será o dano

causado pelo processo de congelação, originando perfurações profundas nas membranas celulares e provocando futuros danos na textura (Kolbe *et al.*, 2007).

Durante a congelação a água pura expande-se, aproximadamente 9%, quando se transforma em gelo. A maioria dos alimentos também se expande durante o processo de congelação, mas em menor grau do que a água pura. Visto que a maioria dos constituintes do alimento contraem assim que a temperatura decresce, a variação de volume nos alimentos não é uniforme. As áreas que contêm cristais de gelo sofrem expansão enquanto as restantes áreas contraem, conduzindo a danos mecânicos (Zaritzky, 2011).

O aumento da concentração de solutos na matriz não congelada conduz ao aumento da força iónica o qual induz alterações nas estruturas das biomoléculas. As interações água-soluto alteram-se e as interações entre as macromoléculas, tais como as proteínas, aumentam. Os cristais de gelo ao romperem as estruturas celulares, como por exemplo os lisossomas e as mitocôndrias, libertam as enzimas contidas nestes organelos, levando à deterioração da qualidade do pescado. A maioria das enzimas estão activas e ficam com maiores probabilidades de entrar em contacto com os diferentes substratos; as enzimas mostram uma grande actividade em sistemas parcialmente congelados (Zaritzky, 2012).

Para muitos sistemas congelados, as velocidades de reacção, como função da temperatura, passam por um máximo a uma temperatura abaixo do ponto de congelação inicial. Isto é uma consequência de factores opostos: baixas temperaturas diminuem as velocidades de reacção e o aumento da concentração de solutos na fase não congelada, aumentam essas velocidades (Delgado *et al.*, 2010).

A desnaturação de proteínas é máxima entre -2 e -10 °C, quando uma parte da água está cristalizada e há uma maior concentração de enzimas e outros compostos considerados desnaturantes (Jaczynski *et al.*, 2006). O pescado que é submetido a congelação lenta permanece muito tempo neste intervalo de temperatura, onde o risco de desnaturação é maior (Benjakul *et al.*, 2010; Delgado *et al.*, 2010).

A congelação lenta produz grandes cristais de gelo que crescem através da membrana celular e permitem a penetração de oxigénio, causando a rancidez e alterações na cor da carne e aumentam o perigo na quantidade de exsudados durante a descongelação (Dempsey *et al.*, 2012).

Os cefalópodes deverão ser congelados tão rápido quanto possível para prevenir a deterioração do produto e a resultante redução do tempo de vida útil, devido ao

crescimento microbiano e às reacções químicas. A temperatura do produto deverá ser monitorizada regularmente para assegurar a plenitude da operação de congelação, uma vez que, se relaciona com a temperatura do centro térmico (Arvanitoyannis *et al.*, 2009a).

3.5.3.4 Técnicas de congelação e equipamentos

A congelação pode ser realizada em armários de congelação, onde o produto é colocado em contacto directo com placas metálicas arrefecidas, que absorvem calor do produto, ou nos congeladores por imersão, onde o produto é mergulhado numa solução arrefecida (salmoura) (Vaz-Pires, 2006a).

Existe ainda a possibilidade de submeter o produto a uma corrente forte de ar muito frio. O ar é um fluido de baixa viscosidade, não corrosivo e tem a capacidade de facilmente contornar as superfícies geométricas irregulares, proporcionando assim, uma taxa de congelação mais uniforme ao longo de todo o produto (Dempsey *et al.*, 2012). A esta forma de congelação chama-se congelação por ar forçado em túneis de congelação, podendo o produto estar estático (“batch”) ou em movimento contínuo. Este tipo de congelação é o mais aplicado na indústria de congelação de pescado (Vaz-Pires, 2006a). A temperatura do evaporador no sistema de refrigeração por ar forçado varia entre -35°C e -52°C. O valor típico da velocidade do ar é 4m/s; o aumento da velocidade do ar, aumenta o coeficiente de transferência de calor, todavia, não se traduz, numa redução do tempo de congelação, uma vez que o uso de ventiladores incrementa a carga energética (Dempsey *et al.*, 2012; North *et al.*, 2011). Nos principais métodos de congelação por convecção forçada, quer o túnel estático quer o túnel contínuo apresentam os menores valores de coeficientes de transferência de calor ($<50 \text{ W/m}^2\text{°C}$) (Dempsey *et al.*, 2012).

A forma geométrica do produto toma um papel significativo na determinação do tempo de congelação. Os filetes de Tilápia (77,7% de humidade) com forma cilíndrica produzem tempos de congelação mais prolongados quando comparados com outras formas geométricas, mas iguais massas e condições técnicas de congelação (velocidade do ar 5 m/s e temperatura de -35°C) (Tan *et al.*, 2009).

O equipamento básico geralmente utilizado na congelação de pescado é o mesmo que nas instalações de refrigeração, mas com custos mais elevados e usando uma tecnologia mais complexa: congeladores de placas verticais, congeladores por imersão, túneis contínuos e estáticos, câmaras de congelação industriais (Vaz-Pires, 2006a).

3.5.3.5 Túneis de congelação estáticos “Batch Freezers”

No túnel estático o produto é colocado em carrinhos com várias prateleiras e estes são transferidos para uma sala ampla onde permanecem até congelarem (Figura 3.5).

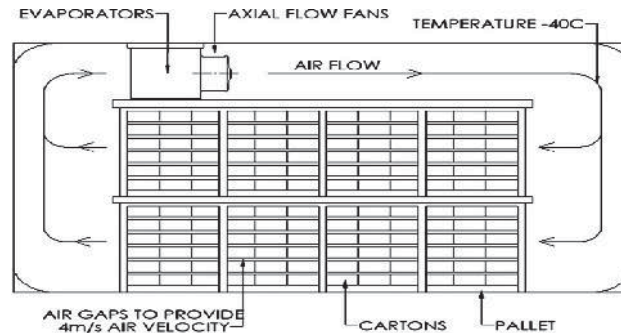


Figura 3.5 — Congelamento em túnel estático (Dempsey *et al.*, 2012).

Os “trolleys” são periodicamente removidos do seguinte modo: fila por fila e o primeiro a entrar é o primeiro a sair. Há ventiladores potentes que fazem circular o ar para os evaporadores localizados na parte superior do túnel (Kolbe *et al.*, 2007).

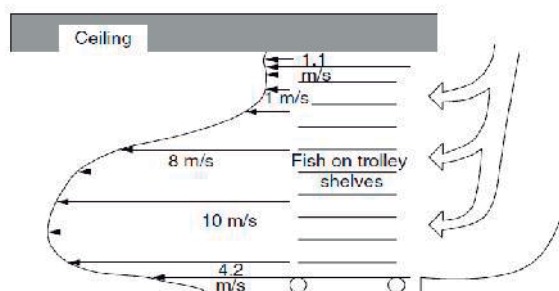


Figura 3.6 — Perfil de velocidades assimétrico num túnel estático com pouca carga. (Kolbe *et al.*, 2007).

O ar frio circula uniformemente sobre o produto. A Figura 3.6 mostra o fluxo de ar num túnel estático para o pescado. Os produtos de maiores dimensões que levam muito tempo para a congelar são mais adequados para este processo estático (descontínuo) do que o processo em contínuo, em espiral ou túnel de congelação. Assumindo um bom dimensionamento, o principal impedimento para o desenrolar da congelação envolve a carga e a uniformidade do fluxo de ar (Kolbe *et al.*, 2007).

O método de congelação por ar forçado, sobretudo quando se utilizam velocidades de ar pequenas (1 m/s), pode ser considerado como um método não muito

rápido de congelação (Alizadeh *et al.*, 2007 e Zaritzky, 2012). Esta velocidade provoca alterações importantes no músculo do pescado: formação de grandes cristais extracelulares e contração das células musculares (Alizadeh *et al.*, 2007).

Observaram-se cristais de gelo com formas irregulares no músculo de salmão (*Salmo salar*), quando submetido à congelação por ar forçado (-30°C), para duas velocidades de ar, 1 e 4 m/s. As microfotografias permitiram avaliar o tamanho e a localização dos cristais de gelo nos tecidos congelados, observando os buracos deixados pelos cristais de gelo (Alizadeh *et al.*, 2007). Também na congelação do robalo (*Dicentrarchus labrax*) por ar forçado (-30 °C), usando a velocidade de ar 4 m/s, durante 2 h, as fibras musculares apresentaram-se seriamente deformadas e contraídas, devido à presença de cristais de gelo intra e extarcelulares (Tironi *et al.*, 2007; Tironi *et al.*, 2010).

3.5.3.6 Armazenamento em congelação/ Estabilidade do pescado congelado

Depois de cumprir a congelação, o produto é transferido para câmaras de armazenamento de congelados, nos quais se injecta e circula ar frio, à temperatura de -18 °C ou ligeiramente inferior. Regulamentos nacionais e internacionais relativos à temperatura de armazenagem de alimentos congelados, fixaram -18°C como a temperatura mais elevada durante o armazenamento e distribuição, embora muitos estudos tenham mostrado que degradação lenta da qualidade do produto ocorre, mesmo a essa temperatura. A temperatura -18°C corresponde a uma optimização entre custos financeiros e tempo de vida útil dos alimentos congelados (Drummond *et al.*, 2009).

Quando a temperatura no centro do produto alcança -18°C, a maior parte da água foi convertida em gelo, e o sistema alimentar é composto por uma fase cristalina de água pura e por um domínio amorfo, o qual contém solutos e água residual (Rahman, 2006).

Se o arrefecimento for rápido, a imobilização rápida das moléculas impede que estas se organizem, forçando a formação de uma estrutura amorfa. Enquanto a temperatura decresce, há um ponto onde a solução não congelada está tão crio-concentrada que a sua temperatura de congelação iguala a sua temperatura de transição vítrea T_g ; toda a matriz congelada experimenta a transição vítrea. Este ponto corresponde à máxima concentração para a formação de gelo e é designado como T_g^* . O pescado é rico em água, pelo que a maioria dos seus valores T_g^* , estão abaixo da

temperatura normal de armazenamento em congelação (Delgado *et al.*, 2010). Seguem-se exemplos de temperaturas de transição vítrea, em crio-concentração para várias espécies de pescado: garoupa, -26,6°C (Rahman *et al.*, 2009); robalo, -15,2°C (Tironi *et al.*, 2009); salmão, -27°C (Syamaladevi *et al.*, 2012).

A qualidade dos alimentos obtidos a partir de um processo de congelação rápida pode ser perdida durante o armazenamento, em maior ou menor extensão, dependendo da mobilidade da matriz e, portanto, da velocidade a que decorrem os processos deteriorativos. Quanto maior for a diferença entre Tg do pescado e a temperatura de armazenamento tanto maior é a mobilidade e assim menor a estabilidade do pescado (Rahman, 2006).

As alterações que ocorrem no pescado durante a manutenção em congelação são devidas à recristalização, à desidratação, à desnaturação proteica, à oxidação lipídica e proteica.

Recristalização

Equivale a ter realizado uma congelação mais lenta. A abertura frequente de portas ou falhas de corrente eléctrica que provoquem pequenas variações de temperatura, $\pm 2^\circ\text{C}$, são suficientes para que a recristalização tenha lugar (Vaz-Pires, 2006a).

No armazenamento em congelação de carne, sob condições isotérmicas, os cristais crescem progressivamente com o tempo de armazenamento; paralelamente, a capacidade de retenção de água diminui e a quantidade de exsudado na descongelação aumenta. A desnaturação das proteínas e os danos mecânicos incutidos às células, são provavelmente as causas desta evolução (Leygonie *et al.*, 2012).

Por sua vez, a vantagem inicial obtida pela congelação rápida é perdida durante o armazenamento devido à recristalização (Alizadeh *et al.*, 2007). Os pequenos cristais de gelo são os mais instáveis durante o armazenamento. De facto, a teoria da nucleação de cristais de gelo permite calcular a energia livre dos cristais de gelo, como a soma da energia livre de superfície e energia livre de volume. Os cristais de gelo menores são os mais instáveis, porque com o aumento do raio do cristal, a energia livre de volume aumenta mais rapidamente do que a energia livre de superfície (Zaritzky, 2012).

As recristalizações podem ser: (i) isomássicas, quando se observa uma transformação da estrutura interna dos cristais com redução da razão superfície/volume. Os cristais de gelo de forma irregular e grande razão superfície/volume adoptam uma

configuração mais compacta e tendem a tornar-se mais esféricos e mais suaves ao longo do tempo; (ii) migrações, também conhecido pela “maturação de Ostwald”, em que se verifica um incremento nas dimensões dos cristais maiores a partir do contacto com os mais pequenos e (iii) agregações, em que se verifica a fusão de cristais e a formação de outros de maior dimensão (Drummond *et al.*, 2009; Zaritzky, 2011).

A recristalização também está dependente da presença de obstáculos estruturais no tecido muscular, que podem restringir a evolução do tamanho dos cristais (Fernández *et al.*, 2008; Tironi *et al.*, 2010).

Desidratação

Durante a congelação e o armazenamento em congelação de alimentos não embalados/acondicionados ou com uma embalagem não aderente, ocorrem perdas de peso devido a gradientes de pressão de vapor entre a superfície do alimento e o meio envolvente. O gelo situado na parte externa do produto sublima, produzindo uma desidratação superficial que altera as suas características físicas e organolépticas (Olguín *et al.*, 2008).

As perdas aumentam quando o produto sofre flutuações de temperatura. Esta desidratação superficial favorece os fenómenos de desnaturação das proteínas e a oxidação dos lípidos e da mioglobina. O pescado congelado sem protecção pode perder em água até 5% do seu peso durante 2 meses; pescado vidrado ou embalado com protecção impermeável perde apenas 1% num ano. O pescado desidratado manifesta sabor palha característico, além de textura mais rígida e aspecto seco (Vaz-Pires, 2006a).

Desnaturação proteica

As proteínas desempenham várias funções na célula mas para tal têm de se encontrar numa conformação tridimensional adequada, que não envolva a alteração da sequência de aminoácidos: estado nativo. Em condições fisiológicas, o estado nativo corresponde à conformação termodinamicamente mais estável (Fonseca *et al.*, 2006; Delgado *et al.*, 2010).

Quando sujeitas a alterações de temperatura, pH ou na presença de certos agentes químicos desnaturantes (soluções salinas), as proteínas podem facilmente perder a conformação nativa e desnaturar e agregar (Wang *et al.*, 2010).

Os efeitos da desnaturação proteica são numerosos: a solubilidade reduzida, a capacidade de retenção de água alterada, a formação de exsudados, perda de actividade biológica, especialmente enzimática, e a susceptibilidade ao ataque por proteases, devido à exposição física das ligações peptídicas nas estruturas desenroladas da proteína (Benjakul *et al.*, 2010).

As proteínas do pescado são particularmente sensíveis à desnaturação durante o armazenamento em congelação, sobretudo quando há flutuações de temperatura e repetidos ciclos congelação/decongelação. As proteínas desnaturadas são incapazes de absorver os exsudados, resultando numa textura dura, característica do pescado congelado.

Inúmeros estudos discutem a influência do estado de frescura e congelação na capacidade de retenção de água e exsudados, em diferentes espécies de pescado: pescada (*Merluccius merluccius*) (Sánchez-Alonso *et al.*, 2012); salmão (*Salmo salar*) (Fernández-Segovia *et al.*, 2012); Raia (*Dasyatis brevis*) (Ocaño-Higuera *et al.*, 2011); ostra (*Crassostrea belcheri*) (Songsaeng *et al.*, 2010); robalo (*Dicentrarchus labrax*) (Tironi *et al.* 2010); cação (*Mustelus lunulatus*) (Ocaño-Higuera *et al.*, 2009); choco (*Sepia pharaonis*) (Thanonkaew *et al.*, 2008).

As proteínas miofibrilares dos cefalópodes mostraram ser resistentes à desnaturação induzida pela congelação. A paramiosina, que corresponde a cerca de 14% das proteínas miofibrilares da lula, está envolvida na diminuição da taxa de desnaturação proteica durante o armazenamento em congelação deste cefalópode. Por outro lado, as alterações proteolíticas que ocorrem durante a espera em refrigeração, antes da congelação, podem influenciar a funcionalidade das proteínas. A miosina é a primeira proteína miofibrilar a ser hidrolizada, seguida da paramiosina durante a autólise, através de proteases endógenas nos braços do polvo (Venugopal, 2006).

Um problema particular das espécies marinhas, sobretudo no género *Gadus* (por exemplo o bacalhau), é a degradação do óxido de trimetilamina (OTMA) por enzimas endógenas, formando a dimetilamina e formaldeído. O formaldeído estabelece ligações cruzadas com as proteínas do músculo e contribui para o endurecimento do músculo, durante o armazenamento em congelação (Leelapongwattana *et al.*, 2008). Os níveis de OTMA determinados separadamente nos braços de polvo e manto, no início da refrigeração, variam entre 19,91 mg/100g e 24,92 mg/100g, respectivamente; estes valores são inferiores aos encontrados para a lula e choco (Lougovois *et al.*, 2008).

Oxidação lipídica e proteica

É considerada como o grande inimigo da congelação, já que é o único fenómeno degradativo que a congelação não consegue parar, todavia pode ser atrasada. A oxidação lipídica é um factor limitante do tempo de conservação de congelados, e que se torna assim, muito dependente do teor de gordura do produto (Vaz-Pires, 2006a).

A oxidação lipídica é influenciada por numerosos factores internos e externos tais como a composição em ácidos gordos, teor e actividade de pró e antioxidantes, temperatura de conservação, pressão de oxigénio, superfícies em contacto com o oxigénio, e actividade da água (Bartosz *et al.*, 2010). A frescura do pescado no momento de congelar é importante para determinar o tipo e extensão das alterações lipídicas, logo que o pescado é congelado. As alterações dos lípidos de pescado devem-se a reacções de hidrólise e de oxidação (Kořakowska, 2011).

Sob condições de congelação, a mobilidade molecular local e as condições do meio permitem que as lipases e fosfolipases estejam activas. Com a ruptura das membranas celulares, devido à formação de cristais de gelo, favorece-se o contacto destas enzimas com os substratos. Os ácidos gordos livres que se acumulam na carne durante a conservação sob congelação, não desenvolvem nenhum efeito sobre a qualidade organoléptica do produto. No entanto, podem contribuir para a alteração da sua textura ao reagirem com proteínas e ao terem influência sobre as alterações oxidativas dos lípidos. A velocidade de formação de ácidos gordos livres decresce com a temperatura de armazenagem (Rodríguez *et al.*, 2007).

Se o pescado magro for armazenado a temperaturas baixas e controladas, a oxidação lipídica não é perceptível passado um ano em armazém, devido à pequena contribuição dos lípidos para a rancidez do músculo (Kořakowska, 2011). Todavia, no músculo de caranguejo (*Scylla serrata*), que possui 0,12% de gordura, o teor em substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico aumentou durante o armazenamento em congelação (-20°C). Este facto é explicado, pela susceptibilidade à desnaturação das proteínas e a enzimas libertadas das células musculares, danificadas pelos cristais de gelo que aceleram a oxidação lipídica (Benjakul *et al.*, 2009).

Embora a oxidação lipídica possa ter natureza enzimática ou foto-oxidativa, o mecanismo mais frequente é o que envolve espécies reactivas de oxigénio, radicais livres e não radicais, caracterizado por três fases principais: iniciação, propagação e terminação (Fogaça *et al.*, 2009).

Os compostos oxidados primários, os hidroperóxidos, não apresentam cheiro nem sabor, pelo que não são perceptíveis a nível sensorial. Os compostos oxidados secundários, como por exemplo o aldeído malónico, são mais estáveis e a partir de determinadas concentrações são reponsáveis pelo sabor e cheiro a ranço. Assim, podem medir-se as substâncias que conseguem reagir com o ácido tiobarbitúrico, TBA-RS (Fogaça *et al.*, 2009; Rustad, 2010).

Muitos dos compostos secundários reagem com os grupos amina das proteínas e alguns aminoácidos, formando compostos terciários, que conferem coloração amarelada ou acastanhada ao músculo de pescado. Estas alterações ocorrem sobretudo durante a conservação em congelação (Thanonkaew *et al.*, 2007). A oxidação lipídica e proteica têm os mesmos catalizadores e estão interligadas, embora para a segunda tenham sido descritos uma elevada complexidade de mecanismos e grande variedade de produtos oxidados. A formação de derivados carbonilos proteicos, por exemplo, a partir da oxidação das cadeias laterais dos aminoácidos, contribui para debilitar a conformação das proteínas miofibrilhares, conduzindo à desnaturação e perda da funcionalidade (Estévez, 2011). A truta, armazenada a -20°C, sofreu uma extensa oxidação e constatou-se que a oxidação de lipídios e de proteínas se desenvolvia simultaneamente (Baron *et al.*, 2007). Soyer *et al.* (2010) provaram que os mecanismos de reação na oxidação lipídica e proteica estão directamente ligados a factores prooxidativos e antioxidativos na carne de frango, armazenada durante 6 meses, a -18°C.

Os ciclos de congelação/descongelação também incrementam a oxidação de proteínas e lipídios no pescado e carne (Boonsumrej *et al.*, 2007; Sriket *et al.*, 2007; Thanonkaew *et al.*, 2006a; Xia *et al.*, 2009).

Nos cefalópodes a oxidação é uma das principais reacções que causam perdas de qualidade durante o armazenamento em congelação— descoloração, formação de exsudados, alterações na textura, desenvolvimento de off-flavour e produção de substâncias potencialmente tóxicas (Thanonkaew *et al.*, 2006b). Os micronutrientes essenciais, ferro e cobre, nos cefalópodes, são necessários como cofactores para um grande número de enzimas e outras actividades celulares. Os iões dos metais de transição têm uma considerável contribuição para a oxidação lipídica, especialmente na decomposição de hidroperóxidos. A descompartimentação dos componentes celulares, a desnaturação proteica e a acção de redutores podem libertar sobretudo o grupo heme e o ferro a partir das hemoproteínas, e também o cobre a partir das hemocianinas, estimulando a formação de espécies reactivas de oxigénio (Bartosz *et al.*, 2010).

O sal melhora a conservação da carne devido à sua acção bacteriostática, aumenta a capacidade de retenção da água e o poder ligante e melhora o sabor (Ferro Palma, 2011). Todavia, o sal, a partir de determinada concentração, é um pró-oxidante que contribui para limitar a estabilidade face à oxidação dos produtos cárneos. O sal dilata a actividade dos catalizadores e é responsável pelas modificações na organização celular, favorecendo assim a oxidação (Min *et al.*, 2010).

3.5.4 Vidragem/Embalagem

A indústria de transformação de produtos da pesca congelados utiliza a vidragem como método de conservação a temperaturas de congelação, porque evita a desidratação superficial dos tecidos dos produtos da pesca, retarda notavelmente o ranço por oxidação, devido à fraca solubilidade do oxigénio no gelo e influi positivamente na diminuição da desnaturação proteica durante o período de validade dos mesmos. Esta operação tecnológica consiste na aplicação de uma camada protectora de gelo formada à superfície de um produto congelado, pulverizando-o ou mergulhando-o em água potável ou água potável com aditivos autorizados (crioprotectores), conforme o adequado (Archer, 2008; Benjakul *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2008; Vanhaecke *et al.*, 2010).

Esta técnica aplica-se com sucesso no camarão (*Xiphopenaeus kroyeri*) congelado. Gonçalves *et al.* (2009) demonstraram que a vidragem de camarão realizada por imersão (água à temperatura de $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$), durante 15 a 20s, contribuiu para que o pH permaneça estável e os valores de ABVT foram sempre baixos, ao longo dos 180 dias de armazenamento em congelação à temperatura de -18°C .

O Decreto-Lei Nº 37/2004 define as condições de comercialização do pescado congelado e o método para a determinação do peso líquido escorrido. A determinação do teor de vidragem no pescado tem numerosos fins. Em primeiro lugar, o grau de vidragem afecta a qualidade do produto, em particular, um grau muito baixo de vidragem ($<6\%$), pode prejudicar a sua função protectora. Em segundo lugar, a vidragem é relevante numa perspectiva de mercado e economia; excessiva vidragem ($>12\%$) pode implicar lucros adicionais para os vendedores em detrimento dos compradores, o que pode levar a conflitos comerciais, e iludir os consumidores (Vanhaecke *et al.*, 2010).

É conveniente controlar a vidragem de modo a que a espessura da camada de gelo sobre o produto seja uniforme. A espessura depende do tempo de vidragem, da temperatura do produto da pesca e da água, da forma e das dimensões do produto. Uma

outra dificuldade é a fragilidade da película de gelo que pode fender-se durante o posterior manuseamento e deixar finalmente, a pele do pescado exposta ao ar em vários pontos (Gonçalves *et al.*, 2009).

O uso adequado de embalagens prolonga a vida útil do pescado congelado; as embalagens agem como barreiras protectoras durante a congelação, armazenamento e distribuição. A melhor protecção está garantida com uma embalagem impermeável ao oxigénio e humidade, intimamente pegada ao produto e selada no vazio ou sob atmosfera inerte, para impedir a desidratação e evitar as perdas de peso e de qualidade (minimiza a oxidação lipídica, e o desenvolvimento da rancidez) (Atrea *et al.*, 2009). O polvo congelado é envolvido num filme de PVC, passando depois por um túnel, onde se realiza a retracção do filme. Esta operação é realizada rapidamente para que não se verifique um grande aumento de temperatura (Laranjinha, 2009).

3.5.5 “Tempering”/Descongelação

O “Tempering” é uma operação unitária que consiste no aumento da temperatura do produto congelado (tipicamente a -18°C) até um determinado valor abaixo do ponto de congelação (por exemplo, de -5°C a -2°C). Esta operação unitária, também designada por semi-descongelação, permite a desintegração e separação de carne e pescado congelados em bloco, para posterior processamento e reduz os problemas associados à descongelação, tais como os exsudados e o crescimento bacteriano (James *et al.*, 2011).

Muitos métodos podem ser utilizados no “tempering”, incluindo a colocação do produto em contacto com o ar ou água, a temperaturas controladas. O ar em contacto com o produto transfere o calor para a superfície externa do produto. Este calor, transfere-se lentamente para o interior do produto por condução (Farak *et al.*, 2008). No pescado congelado em bloco também se recorre a um processo de natureza mecânica, a prensagem, que permite um aumento de temperatura de aproximadamente 5°C (Gecevicius, 2009).

Os processos “tempering” e descongelação não devem ser confundidos, porque o primeiro constitui apenas a fase inicial de um processo completo de descongelação. Na prática, o “tempering” é um processo em que a temperatura do produto aumenta ou diminui para um valor considerado óptimo para a etapa seguinte de processamento (James *et al.*, 2011).

Na descongelação, a camada superficial descongela primeiro, e logo o calor a fornecer ao centro do produto tem de atravessar a água no estado líquido. À medida que

esta “frente de descongelamento” avança, uma camada de produto descongelado tende a isolar o centro ainda congelado, reduzindo a transmissão de calor. Como o gelo é melhor condutor de calor do que a água líquida, é mais fácil congelar do que descongelar (Vaz-Pires, 2006a). A descongelamento é normalmente considerada como completa quando o centro do produto atinge 0°C (James *et al.*, 2011).

A maioria das mudanças texturais devido à congelamento e armazenamento em congelamento só se tornam visíveis após a descongelamento. Após a descongelamento as diferenças tornam-se claras: perda de água (exsudados) e fluidos celulares, devido tanto a fissuras celulares (danos mecânicos) como a perda da capacidade de retenção de água, perda das proteínas que implica a perda de aminoácidos, de vitaminas, de sais minerais e das características organolépticas importantes, como o sabor e a textura (James *et al.*, 2011).

A descongelamento mais simples é a descongelamento com ar estático, realizada ao ar ou simplesmente retirando o produto da câmara e colocando-o num local de preferência fresco, ventilado e sem poeiras ou luz solar directa. Embora um pouco lento, este processo é usado industrialmente, geralmente durante a noite. Idealmente deveria ser sempre realizado em câmaras de refrigeração, porque a superfície externa do pescado pode atingir temperaturas perigosas (acima de 8 °C) enquanto o interior do produto está ainda parcialmente congelado (Vaz-Pires, 2006a).

Os efeitos de diferentes métodos de descongelamento (refrigeração, em água, ar à temperatura ambiente e microondas) na qualidade física, microbiana e química do pescado congelado, foram estudados por Ersoy *et al.* (2008) e Javadian *et al.* (2012). No primeiro grupo de trabalho, os valores de pH, TBA e a* (a*- coordenada da cromaticidade que define a cor vermelha para valores positivos e a cor verde para valores negativos) diminuíram e o ABVT aumentou nas amostras de enguia, descongeladas por refrigeração em relação à enguia fresca (controlo); no segundo grupo, os valores de TBA e ABVT aumentaram e o pH diminuiu nas amostras descongeladas por refrigeração de truta arco-íris, face à truta arco-íris fresca.

3.5.6 Recongelamento

É sabido que um produto que já iniciou a descongelamento não deve voltar a ser congelado. Se for recongelado, os cristais formados serão, em princípio, maiores do que os primeiros mas, mesmo que não fossem, submeter as células duas vezes a microperfurações ainda que pequenas, resulta quase sempre em produtos de fraca

qualidade. Após descongelados, os produtos têm maior sensibilidade a alterações microbiológicas, bioquímicas e químicas, pelo que já se perde o suficiente com a primeira congelação para arriscar uma segunda (Rocha, 2008; Vaz-Pires, 2006a).

Na indústria, em determinadas operações de processamento pode ser necessário recongelar produtos. Por exemplo, o pescado congelado, em alto mar, logo que chega à fábrica é descongelado para posteriores etapas de processamento, incluindo a recongelação e distribuição. A indústria realiza normalmente congelação rápida, obviamente menos prejudicial para o produto do que a congelação lenta que é realizada pelo consumidor (Kramer *et al.*, 2012).

3.6 Qualidade do Pescado Congelado

A definição do termo qualidade é muito abrangente, sendo determinada por diversos atributos, onde a frescura toma particular relevância, pois constitui um dos critérios que determina a sua aceitabilidade pela indústria/consumidor e também o seu valor comercial (Nunes *et al.*, 2007).

A qualidade do pescado congelado depende: do estado de frescura do pescado antes de se proceder à sua congelação e o do processo de congelação. O processo de congelação decompõe-se, por sua vez, em três fases sucessivas: congelação, armazenamento em congelação e descongelação. Para cada uma são definidas as condições que causam o mínimo de modificações, e assim evitar alterações nas características iniciais do produto. Ao conjunto destas três fases dá-se o nome de ciclo congelação/dcongelação.

As alterações que ocorrem na qualidade do polvo durante a congelação, armazenamento em congelação e descongelação, desempenham um papel importante no sucesso dos produtos a ser comercializados como alimento congelado. Assim, é imperativo determinar a qualidade em todas as fases, desde o produto fresco, produto congelado até ao produto descongelado. Além disso, muitos produtos congelados e nomeadamente o polvo, serão consumidos após o tratamento térmico, a qualidade do alimento deve ser determinado no pós-processamento (Mallikarjunan, 2011). Os parâmetros de qualidade considerados críticos aplicados ao polvo, passam pela cor/aparência, textura e flavor.

3.6.1 Avaliação instrumental da cor

Algumas das alterações sensoriais podem ser detectadas por métodos instrumentais, como é o caso das alterações ao nível da cor. Os métodos instrumentais de medição da cor têm cada vez mais importância no controlo da qualidade na indústria alimentar. Os consumidores, muitas vezes, avaliam a qualidade inicial do produto pela sua cor e aparência (Schubring, 2011).

O sistema CIELAB é frequentemente utilizado na medição da cor de produtos alimentares. Este sistema utiliza três parâmetros: valores de L^* (luminosidade), a^* (verde/vermelho) e b^* (amarelo/azul) (Mallikarjunan, 2011).

Se um estudo comparativo for realizado (por exemplo, fresco e congelado, durante armazenamento, ou descongelado), os valores, ΔL^* , Δa^* , Δb^* , indicam o quanto uma amostra e a amostra de controlo diferem, e fornecem informações mais significativas dos processos do que unicamente os valores absolutos da cor. A diferença total da cor, ΔE^* , pode também ser calculada tendo em conta todas as diferenças L^* , a^* e b^* entre as amostras e amostra padrão. A diferença na saturação ou croma, ΔC^* , e o ângulo hue, ΔH^* , é descrita no sistema de coordenadas polares (Castigliego *et al.*, 2012; Mallikarjunan, 2011).

A cor da carne de pescado depende do conteúdo em músculo vermelho, da concentração e alterações oxidativas das hemoproteínas e outros pigmentos existentes, tais como os carotenóides, principalmente astaxantina, cantaxantina, tunaxantina e seus derivados (Sikorski *et al.*, 2010). O comportamento destes pigmentos sobre a acção do calor determina a cor da carne cozida (King *et al.*, 2006).

O polvo, lula e choco são famosos, *in natura*, pela capacidade de mudança de cor que é utilizada para comunicar e camuflar. A coloração estrutural tem como função, aumentar o padrão da pele que é produzido em grande parte por cromatóforos pigmentados, controlados neuralmente. Os cromatóforos são células especializadas, com muitas projecções citoplasmáticas, que lhes conferem aspecto dendrítico, e são responsáveis por sintetizar e armazenar pigmentos, como os carotenóides e que estão associados a proteínas (Mäthger *et al.*, 2009).

O polvo como predador, inclui na sua dieta, preferencialmente crustáceos que são ricos em carotenóides e desta forma, o polvo acumula na pele e gónadas estes pigmentos (Villanueva *et al.*, 2009). Almansa *et al.* (2006) observaram elevados níveis de astaxantina na pele de choco juvenil.

O tratamento térmico desnatura e separa o carotenóide da proteína, o qual é depois oxidado. Os valores de a^* e b^* aumentaram no camarão tigre quando submetido a tratamento térmico (Benjakul *et al.*, 2008).

Durante o processamento e conservação em gelo os cefalópodes sofrem alterações na cor, levando a uma menor aceitação pelo consumidor. A difusão da cor rosa sobre a pele aumenta com o tempo de armazenamento. O aumento dos valores a^* e b^* no manto de lula, armazenado em gelo, indicam a formação de cor rosa. O valor de a^* não sofre alteração na lula, sem pele, ao longo do armazenamento; havendo somente um ligeiro aumento de b^* , ou seja, o aparecimento de tons amarelados no manto. A pele contém muitos pigmentos que são provavelmente a maior fonte de pigmentos vermelhos e rosa, que mancham o manto, especialmente quando o tempo de armazenamento aumenta (Sungsri-in *et al.*, 2011).

A formação do pigmento amarelo no músculo da lula congelada está relacionada com as reacções não enzimáticas que ocorrem entre os produtos da oxidação lipídica e as aminas dos fosfolípidos. Os fosfolípidos constituem a maior fracção de lípidos na lula (Thanonkaew *et al.* 2006c). O manto de lula com pele, exibiu maiores aumentos no valor b^* quando comparado com o seu homólogo sem pele (Sungsri-in *et al.*, 2011).

Para agradar aos consumidores é muito frequente utilizar-se no Sudoeste Asiático o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) que branqueia o manto das lulas; os valores de a^* , b^* , ΔE^* e ΔC^* da lula congelada diminuem, mas o H_2O_2 , enquanto agente oxidante promove a oxidação lipídica durante o armazenamento em congelação (Benjakul *et al.* 2012).

3.6.2 Avaliação instrumental da textura

A textura é o resultado perceptível da estrutura interna do material, que por sua vez é determinada pelas relações intermoleculares dos seus constituintes; a medição de parâmetros de textura está apoiada em testes mecânicos (Chen *et al.*, 2013).

A par do desenvolvimento da textura sensorial, muitos métodos instrumentais têm sido desenvolvidos para medir as propriedades dos alimentos e em particular do pescado. As diferentes técnicas desenvolvidas baseiam-se em princípios reológicos como a compressão, punção ou força de corte. A maior parte da informação sobre a textura do pescado, para avaliar a qualidade, é baseada em testes mecânicos empíricos ou imitativos (Careche *et al.*, 2009).

A textura do pescado é influenciada por vários factores: espécie, condição biológica do pescado, métodos de captura ou sacrifício, armazenamento e condições de processamento ou tratamentos culinários. Durante o armazenamento em congelação, o músculo do pescado pode sofrer alterações indesejáveis na textura, especialmente o pescado magro. Estas alterações têm como resultado um produto seco e duro (Sánchez-Alonso *et al.*, 2011).

Quando as análises são realizadas no músculo do pescado, o tamanho e a forma do pescado tornam muitas vezes a preparação de amostras homogéneas, uma tarefa difícil. A estrutura complexa do pescado em termos de organização, orientação das fibras e de tecido conjuntivo, assim como a fragilidade de toda a estrutura, são factores relevantes nos testes reológicos. Outros aspectos que afectam as medições e que conduzem a erros são a compressão exercida e a temperatura aquando da utilização de amostras submetidas a tratamento térmico. Apesar destas desvantagens, a análise de textura através de métodos mecânicos é muito utilizada na avaliação da qualidade do pescado, uma vez que, em diferentes estudos com diferentes espécies, foi possível encontrar uma boa correlação entre a análise de textura e a análise sensorial (Careche *et al.*, 2009).

3.6.2.1 Punção simples

A punção simples é um método que mede a força requerida para perfurar a amostra, a uma dada distância e com uma determinada velocidade. O parâmetro mais importante a retirar deste tipo de teste é a força máxima registada ao longo do tempo (Alvarenga *et al.*, 2009).

O teste de punção simples é um teste imitativo e destrutivo que compreende um ciclo com o objectivo de imitar a acção da maxila, também conhecido como teste de uma dentada. Este teste é realizado num texturómetro que fornece energia mecânica a velocidade constante. O grau de deformação e/ou resistência oferecida é registada e usada como um índice de textura do alimento. A força necessária para atingir uma determinada profundidade no alimento, ou qual a profundidade atingida para uma determinada força de penetração do alimento é medida (Chen *et al.*, 2013).

A partir da curva, força *versus* tempo, é possível determinar os parâmetros: dureza (força máxima registada no ciclo de punção, na maior parte dos casos a dureza está relacionada com a força de ruptura do material); adesividade (trabalho necessário para vencer as forças de atracção entre o alimento e as superfícies com as quais entra em

contacto); fracturabilidade (existe quando são registados dois picos no primeiro ciclo e é dada pela força registada no primeiro pico; é a força necessária à fractura do material) (Sánchez-Alonso *et al.*, 2011).

Além da força, o declive da curva força versus tempo (gradiente de deslocação entre a força exercida no início do teste e a força exercida no ponto de ruptura) permite distinguir diferenças de textura nas diferentes regiões do músculo de pescado: cauda, barriga e dorso. O valor do declive está relacionado com as propriedades aparentes da elasticidade e é um índice de dureza do músculo (Casas *et al.*, 2006).

O teste de punção e o teste de compressão são os métodos mais utilizados para medir as propriedades texturais dos alimentos, sobretudo nos frutos e nos vegetais (Chen *et al.*, 2013).

No pescado, o teste de punção tem sido essencialmente utilizado na análise das propriedades mecânicas dos géis. Os parâmetros, força máxima de ruptura, deslocamento à ruptura e força do gel (trabalho de punção) são determinados a partir das curvas força-deslocamento (Campo-Deaño *et al.*, 2011; Cardoso *et al.*, 2010; Moreno *et al.*, 2009; Ramirez *et al.*, 2007). Este teste também é usado para avaliar as alterações ocorridas na textura durante o armazenamento em refrigeração, associadas ao começo e resolução do *rigor mortis* (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2008), aos métodos de abate ou atordoamento (Roth *et al.*, 2009; Roth *et al.*, 2010), à atividade de proteases (Bahuaud *et al.*, 2010), e à composição química e estrutura física do músculo ao longo do filete de pescado (Casas *et al.*, 2006).

As sondas (punções) utilizadas apresentam diferentes formas e tamanhos: cónicas, cilíndricas e em forma de cunha. O diâmetro da sonda é muitas vezes pequeno, variando dos 11 mm a 2 mm, ou mesmo um milímetro como se fosse uma agulha. No que diz respeito à velocidade de penetração do punção, esta pode ser de alguns milímetros por segundo, por exemplo 4 mm/s. Igualmente, a penetração da sonda pode ser de vários milímetros, dependendo principalmente do tamanho das amostras (Chen *et al.*, 2013).

O tamanho da amostra deve ser superior ao tamanho da sonda. Nas amostras finas, tipo filete de pescado, há um risco de comprimi-las contra o prato de suporte, e assim, o teste apresenta-se como uma combinação de punção e compressão (Careche *et al.*, 2009).

3.6.2.2 Força de corte

A força de corte tem sido usado como medida objectiva para avaliar a tenrura da carne cozida, mediante um texturómetro e expressa em kg-força ou N (Kong *et al.*, 2007).

A orientação das fibras com respeito à lâmina e também a relação entre o diâmetro e a secção atravessada nas amostras. Um dos problemas deste teste está na dificuldade em realizar o teste com pequenas amostras de músculo de pescado. O corte toma lugar numa área localizada do músculo, causando distorção das fibras musculares. (Sánchez-Alonso *et al.*, 2011).

A tenrura é uma das características sensoriais da carne mais importantes, mas também aquela, que apresenta maior variabilidade (Lagerstedt *et al.*, 2008), podendo definir-se como a facilidade com que esta é mastigada (ISO 5492/1992).

O desenvolvimento da tenrura está dependente da arquitectura e da integridade do esqueleto da célula muscular e dos acontecimentos que modificam essas proteínas e as suas interacções (Lonergan *et al.*, 2010).

Os braços do polvo consistem num arranjo tridimensional, densamente empacotado, de fibras musculares e tecido conjuntivo que rodeiam o cordão nervoso axial, central (Figura 3.7) (Kier *et al.*, 2007).

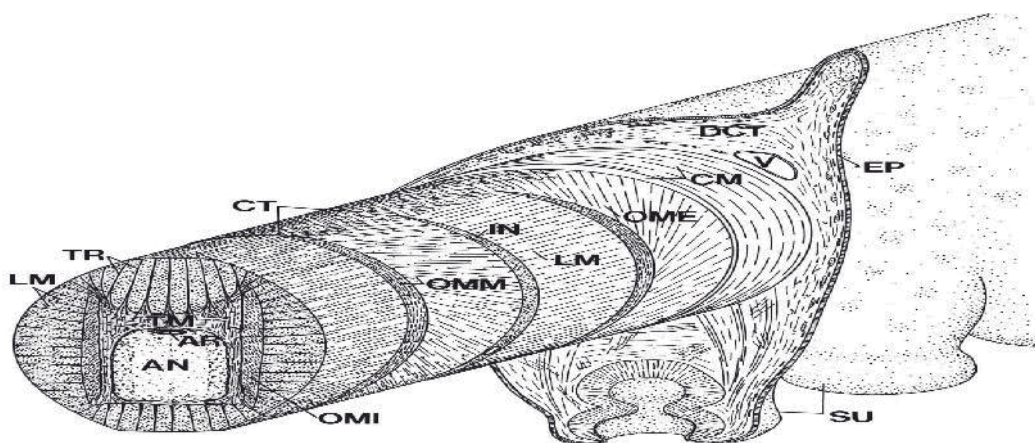


Figura 3.7 – Arranjo tridimensional das fibras musculares e fibras do tecido conjuntivo.

(Legenda: AN, Cordão nervoso axial; AR, artéria; CM, camada muscular periférica; CT, tecido conjuntivo; DCT, tecido conjuntivo dérmico; EP, epiderme; IN, nervo intramuscular; LM, fibras musculares longitudinais; OME; camada externa de músculo oblíquo; OMI, camada interna de músculo oblíquo; OMM, camada muscular mediana oblíqua; SU, ventosas; TM, fibras musculares transversais; TR, trabéculas; V, veia) (Kier *et al.*, 2007)

Os cefalópodes em geral e o polvo em particular, tem uma textura firme e dura, especialmente enquanto fresco. Esta dureza está associada à estrutura do colagénio, conteúdo e agregação nos músculos dos cefalópodes (Katsanidis, 2008).

A avaliação da textura de um alimento deve ser feita próxima da etapa na qual é consumido (Mallikarjunan, 2011). O efeito do calor nas proteínas influencia a textura da carne cozida, incluindo a desnaturação, a dissociação de proteínas miofibrilares, o encolhimento transversal e longitudinal das fibras da carne, a agregação e formação de gel de proteínas sarcoplasmáticas e a solubilização de tecido conjuntivo (Kong *et al.*, 2007).

A solubilização do tecido conjuntivo melhora a tenrura da carne, enquanto a desnaturação pelo calor das proteínas miofibrilares geralmente causa endurecimento. A solubilidade e gelatinização do colagénio aumenta significativamente com o tempo de aquecimento e muitas destas alterações ocorrem aproximadamente nos primeiros 20 minutos de aquecimento ($T=121^{\circ}\text{C}$). Após aquecimento, a desnaturação e a agregação da miosina e actina causam a contracção do sarcómero e a carne cozida torna-se granulosa. Depois dos 20 minutos de tratamento térmico, os agregados de proteínas sarcoplasmáticas e colagénio podem formar géis que colam as fibras e os feixes de fibras (Kong *et al.*, 2008).

Os valores da força de corte, nas amostras cozidas de lula, *Todarodes sagittatus*, dependem, entre outros factores, das perdas durante o tratamento térmico e da humidade final (Agrañoti *et al.*, 2012); também os músculos da lula, *Photololigo duvaudeli*, e do choco, *Sepia aculeata*, quando sujeitos a cozedura, ficam mais tenros devido à degradação das proteínas e alterações na rede das fibras musculares (Tantasuttikul *et al.* 2011).

A perda de água e a extrema dureza do músculo de polvo são os dois principais problemas tecnológicos durante o seu processamento térmico. As espécies de polvo, *Octopus vulgaris* e *Octopus insularis*, armazenadas em congelação, quando são submetidas a tratamento térmico, cozedura sob pressão, as forças de corte aumentam após os 20 minutos (Castro e Silva, 2009).

A congelação induz no tecido muscular, compactação ligeira, formando-se maiores espaços intercelulares e tecido conjuntivo envolvente, produzido pela formação de cristais de gelo e posterior descongelação. A congelação de polvo fresco, antes da sua cozedura, favorece positivamente a sua tenrura, porque danifica mais as bandas de

miosina e paramiosina do que propriamente a cozedura (Reyes *et al.*, 2009a e Reyes, 2009b).

3.6.3 Viscosidade

A viscosidade é uma das propriedades funcionais mais sensíveis que monitoriza as alterações durante o armazenamento em congelação, das proteínas no músculo de pescado. A viscosidade como propriedade funcional de dispersões proteicas é utilizada frequentemente, na prática, para determinar o grau de desnaturação e agregação de proteínas e, deste modo, antecipar o tempo de vida útil do pescado (Herrero *et al.*, 2006).

O comportamento viscoso de uma dispersão proteica é muito complexo e depende de factores intrínsecos (tamanho molecular, carga superficial, forma, e facilidade de deformação) e factores extrínsecos (pH, temperatura, força iónica e taxa de deformação). Experimentalmente, os factores extrínsecos são mantidos constantes e assim, demonstra-se, claramente, que as alterações na viscosidade das proteínas miofibrilares extraídas são devidas a factores intrínsecos (Mohan *et al.* 2008).

A extracção proteica do músculo de pescado diminui durante a conservação em congelação. Este acontecimento está relacionado com a desnaturação e agregação proteica, causada pelos incrementos progressivos nas ligações intermoleculares: formação de pontes de hidrogénio, ligações hidrofóbicas, pontes de dissulfureto e outras ligações covalentes distintas das pontes de dissulfureto (Thawornchinsombut *et al.*, 2006).

De acordo com Geirsdottir *et al.* (2007), a solubilidade do homogeneizado de proteína de arenque, quer em fresco, quer em congelado (armazenado em congelação durante 6 meses) depende do pH, de uma forma similar ao verificado para o comportamento da viscosidade.

As dispersões proteicas/salinas têm características pseudoplásticas ou adelgaçantes, e o modelo reológico da Potência ou Ostwald-de-Waele pode ser utilizado para descrever o comportamento reológico destas dispersões: $\tau = K (\dot{\gamma})^n$ com $n < 1$, K é uma medida da consistência do fluido (quanto maior for o K mais viscoso é o fluido) e o n representa o afastamento do fluido em relação ao comportamento Newtoniano (para $n=1$ o fluido é Newtoniano) (Liu *et al.*, 2008).

Em fluidos não Newtonianos é vulgar definir uma viscosidade aparente (não constante), μ_a , que é igual à razão entre a tensão de corte e a velocidade de corte, por

analogia com os fluidos Newtonianos. Podemos então escrever: $\tau = [K(\dot{\gamma})^{n-1}] \dot{\gamma}$, fazendo $\mu_a = K(\dot{\gamma})^{n-1}$ e por aplicação de logaritmo: $\log \mu_a = \log K + \log \dot{\gamma}^{n-1}$ (Campanella, 2011).

A viscosidade aparente, para além da pressão e temperatura, depende também da velocidade de corte, diminuindo quando os fluidos são pseudoplásticos.

A avaliação da viscosidade aparente tem sido proposta como um indicador de qualidade do pescado no estado fresco, refrigerado e congelado respectivamente, associada quer a outras técnicas tradicionais para determinar a funcionalidade de proteínas, quer a técnicas reológicas para avaliar alterações na textura (Geirsdottir *et al.*, 2007; Gómez-Estaca *et al.*, 2010; Herrero *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008; Mohan *et al.*, 2006; Mohan *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2010; Ramachandran *et al.*, 2007; Sánchez-Alonso *et al.*, 2012).

3.6.4 Avaliação sensorial

A natureza subjectiva dos métodos sensoriais conduziu à optimização de esquemas de avaliação bem como ao treino de provadores, que permite familiarizá-los com as principais características sensoriais do produto a avaliar, de modo a conseguirem identificar objectivamente as alterações da qualidade. Este treino permite a selecção dos descritores mais adequados à avaliação de cada produto. A intensidade de cada um dos descritores pode ser avaliada por intermédio de diversas escalas (Martinsdóttir *et al.*, 2009).

Destacam-se as seguintes provas sensoriais descritivas, aplicadas ao pescado: European Union Freshness Grading (EU ou EC Scheme), método do índice de qualidade (QIM), escala Torry e Análise Descritiva Quantitativa (QDA) (Ozogul, 2009).

O modo tradicional de avaliar a frescura do pescado recorre à inspecção sensorial (desde a década de 1970) e actualmente está regulamentado a nível europeu. O Regulamento (CE) n.º 2406/96 do Conselho, de 26 de Novembro, “relativo à fixação de normas comuns de comercialização para certos produtos da pesca”, também estabelece os “graus de frescura” dos produtos da pesca com base na análise de atributos sensoriais, i.e. num “exame organoléptico”, uma vez que a “qualidade é, em grande parte, avaliada pelo grau de frescura”.

Um dos recentes esquemas de avaliação sensorial do grau de frescura de pescado, o método do índice de qualidade (QIM-Quality Index Method) procura ultrapassar as dificuldades surgidas na aplicação de tabelas menos objectivas, tendo sido inicialmente desenvolvido para peixe inteiro, armazenado em refrigerado e, actualmente é aplicado, entre outros produtos, a filetes, peixe congelado e produtos já cozinhados (Martinsdóttir *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2007; Quim-Eurofish, 2009).

Vaz-Pires *et al.* (2004) desenvolveram um esquema sensorial baseado no método de índice de qualidade para o *Octopus vulgaris*. O interesse do esquema sensorial QIM para o polvo incide no facto do esquema EC para cefalópodes ser apenas aplicável aos chocos (*Sepia officinalis* e *Rossia macrosoma*) e ser baseado em quatro critérios: pele, carne, tentáculos e cheiro (Vaz-Pires *et al.*, 2006b; Sykes *et al.*, 2009).

Na avaliação sensorial de pescado cozido recorre-se frequentemente às tabelas descritivas Torry, principalmente para a avaliação do cheiro e do sabor. A pontuação varia entre 10 e 3 pontos, correspondendo a peixe muito fresco e deteriorado, respectivamente. Esta classificação tem sido usada para determinar a rejeição sensorial de pescado e como critério para a definição do período de conservação útil (Martinsdóttir *et al.*, 2009; Quim-Eurofish, 2009). Na rejeição de pescado recorre-se, normalmente, à análise sensorial do pescado cozido. O tratamento térmico de pescado realça a produção/libertação de compostos voláteis (Moreira *et al.*, 2013).

O tempo de cozedura e a temperatura alcançada durante o processo de tratamento térmico alteram os compostos formados e modificam drasticamente o flavour. O pescado tem uma grande quantidade de lípidos insaturados, deste modo, o sabor a ranço desenvolve-se mais rapidamente, porque os hidroperóxidos são extremamente termolabéis (Terra *et al.*, 2010). A lula (*Dosidicus gigas*) quando é cozida em água potável, à temperatura de 95°C, durante 20-25 minutos, origina uma água de cozedura (efluente) com elevada carga orgânica, contendo compostos relacionados com o flavour da lula. Os compostos são essencialmente, os aminoácidos livres (ácido glutâmico, serina, glicina, arginina, alanina, leucina e lisina), os nucleótidos (hipoxantina é o principal) e os hidratos de carbono (Rosas-Romero *et al.*, 2010).

A Análise Quantitativa Descritiva (“Quantitative Descriptive Analysis”) tem como objectivo o de descrever um dado produto, com a ajuda de um número mínimo de palavras e com um máximo de eficácia, de modo a permitir a obtenção de um “bilhete de identidade” preciso, reproduzível e comunicável a outros (Ozogul, 2009). Esta

metodologia baseada na determinação e quantificação de descritores adequados, permite estabelecer perfis sensoriais (ISO 11035:1994). Sempre que estejamos interessados numa grandeza sensorial complexa e que não possamos determinar por métodos instrumentais, como o aroma, sabor ou textura de um dado produto alimentar utilizamos as técnicas de Perfil Sensorial (Noronha, 2012). Além de fornecer uma completa descrição sensorial dos produtos, permite determinar como os ingredientes ou mudanças de processos afectam as características do produto e identificar atributos sensoriais chave que levam à aceitação pelo consumidor.

A QDA, tem sido utilizada para descrever os diversos aspectos sensoriais do pescado e tem revelado importantes diferenças sensoriais, devido a vários factores: a origem (selvagem/aquacultura), a sazonalidade na captura, os métodos de conservação e o tempo em conservação. Na avaliação de qualidade sensorial dos vários produtos de pesca, pelo método QDA destacam-se os seguintes trabalhos: camarão (*Penaeus duorarum* e *Penaeus setiferus*) (Erickson *et al.*, 2007; Tsironi *et al.*, 2009); corvina (*Micropogonias furnieri*) (Borges *et al.*, 2007); lula (*Symplectoteuthis oualaniensis*) (Xu, 2008); salmão (*Oncorhynchus kisutch*) (Rodríguez *et al.*, 2008); bacalhau (*Gadus morhua*) (Sveinsdóttir *et al.*, 2009; Sveinsdóttir *et al.* 2010; Margeirsson *et al.* 2012); perca (*Lates calcarifer*) (Frank *et al.*, 2009); caranguejo (*Callinectes sapidus*) (Sarnoski *et al.*, 2010); salmão-rei (*Onchorhynchus tshawytscha*) (Larsen *et al.*, 2011); peixe panga ou gato (*Pangasius hypophthalmus*) (Phan *et al.*, 2011); robalo (*Lateolabrax japonicus*) (Hu *et al.*, 2013); ostra (*C.gigas*) (Fratini *et al.*, 2013).

Em relação aos cefalópodes, Faustino (2009) recorreu à avaliação sensorial após o tratamento térmico das amostras, realizando uma prova sensorial através da análise quantitativa descritiva para avaliar e identificar as possíveis diferenças entre o polvo nacional congelado com e sem tratamentos. Santos (2010) também avaliou sensorialmente o manto de pota congelado, antes e após tratamento térmico, pelo método da análise quantitativa descritiva.

4. Material e Métodos

4.1 Material Biológico

As amostras congeladas foram recolhidas nas empresas Laranjinha e Friplex localizadas em Sines. As amostras seguiram o diagrama de processo de fabrico pelo método de congelação por ar forçado em túnel estático (Figura 4.1).

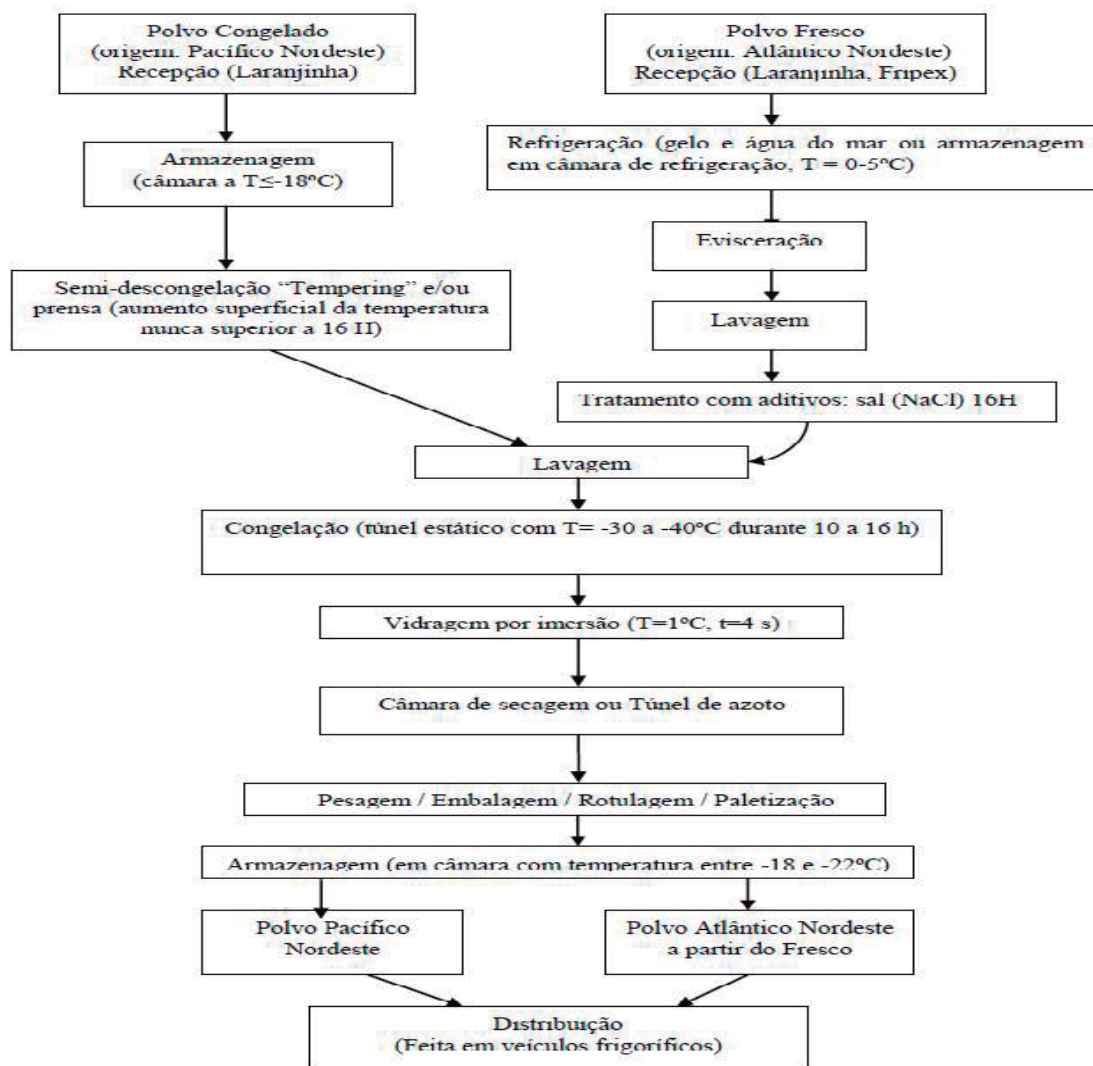


Figura 4.1 — Fluxograma do processo de evisceração e congelação de polvo (método – congelação em ar forçado, túnel estático).

A descongelação das amostras foi realizada em refrigeração toda a noite e na manhã seguinte foram transportadas, em mala térmica, para os laboratórios da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja. As amostras de polvo fresco foram adquiridas na Lota de Sines pela madrugada e também transportadas para o Instituto

conservadas em refrigeração. A figura 4.2 esquematiza o delineamento experimental seguido no presente trabalho.

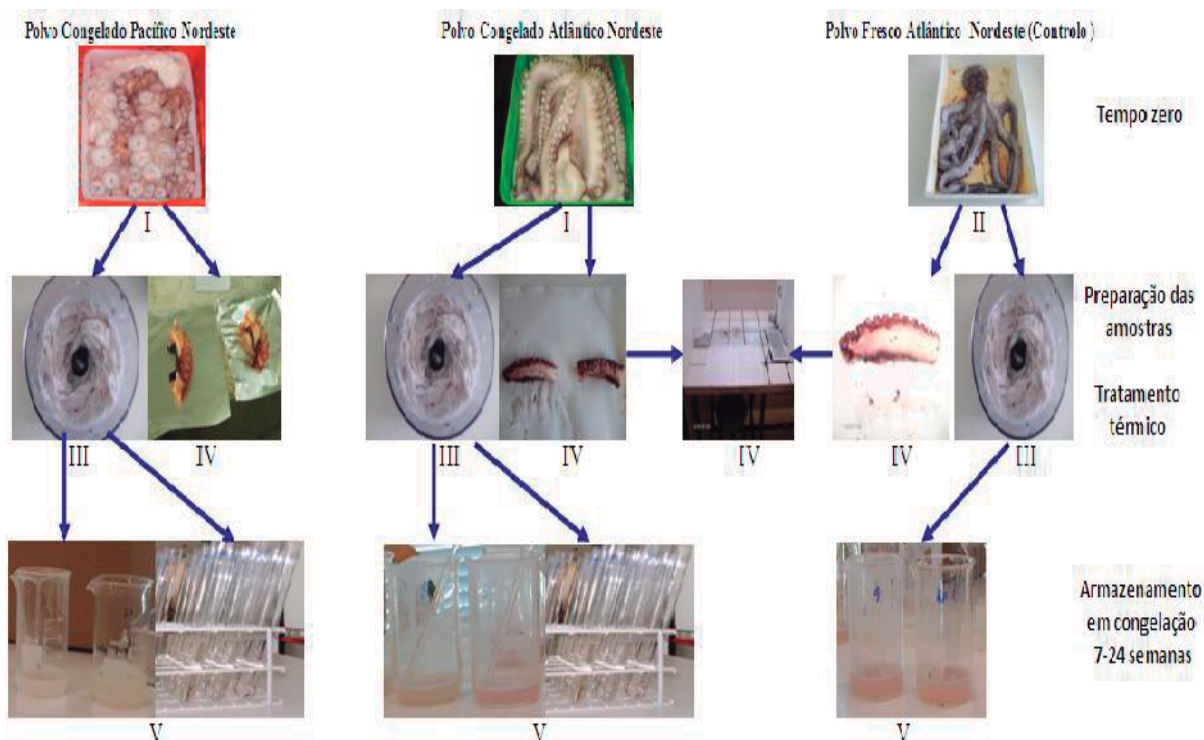


Figura 4.2 — Delineamento experimental.

Legenda:

I — Primeiro ciclo de congelação (armazenamento durante uma semana a -18°C) e seguido de descongelação em refrigeração durante a noite): pesagens antes e após a descongelação, pH e CRA;

II — Polvo fresco (controlo): pesagem, pH e CRA;

III — Trituração e homogeneização do polvo depois de retirar a pele, manto e ventosas: humidade, cinzas, proteínas, lípidos, ABVT, cloretos, sódio e potássio;

IV — Tratamento térmico (panela de pressão, t = 22 minutos): pesagens antes e após a cozedura, cor, textura (punção simples e força de corte) e análise sensorial (polvo fresco e polvo congelado do Atlântico Nordeste);

V — Segundo ciclo de congelação (amostras guardadas em frascos escuros, limpos, secos, cheios e conservados em congelação, utilizando equipamento doméstico/câmara de congelação): determinação do TBA nas amostras de polvo congelado do Atlântico Nordeste e do Pacífico Nordeste para diferentes tempos de conservação e a determinação de viscosidade nas amostras de polvo congelado para diferentes tempos de conservação e a determinação de viscosidade do polvo fresco.

O polvo do Pacífico Nordeste é comercializado em cuvetes plásticas e cada cuvete contém apenas um braço e parte do manto, devido ao grande porte que este polvo possui. O polvo do Atlântico Nordeste também é comercializado em cuvetes plásticas e cada cuvete tem um polvo inteiro eviscerado.

Utilizaram-se nove amostras de polvo congelado: quatro de polvo congelado do Pacífico Nordeste, que tinham um peso médio de $1813 \pm 233\text{g}$ e cinco de polvo congelado do Atlântico Nordeste, que tinham um peso médio de $1389 \pm 281\text{g}$. Todas as amostras experimentaram uma semana de armazenamento em congelação, à temperatura de -18°C . Relativamente, ao polvo fresco do Atlântico Nordeste (controlo) utilizaram-se cinco amostras que tinham um peso médio de $1038 \pm 165\text{g}$.

Após a remoção da pele e ventosas, as amostras foram trituradas e homogeneizadas com o auxílio de uma picadora Moulinex e varinha mágica Bosh, respectivamente. As amostras conservaram-se em refrigeração no frigorífico doméstico em frascos hermeticamente fechados e devidamente identificados para as posteriores análises.

4.2 Reagentes

Os reagentes químicos usados neste trabalho foram das seguintes marcas comerciais: Merck, Panreac, Riedel, Sigma, Fluka e José Manuel Gomes dos Santos, todos com uma pureza mínima do tipo (p.a.), de acordo com as normas ACS (American Chemical Society) ou ISO (International Standard Organization).

4.3 Métodos

4.3.1 Quebras de congelação e tratamento térmico

A determinação da percentagem de quebras do polvo, por pesagem, nas diferentes etapas experimentais, descongelação e tratamento térmico, foram realizadas na planta Piloto da ESA de Beja. As quebras (exsudados) na descongelação constituíram as primeiras determinações realizadas antes de qualquer outra avaliação.

Os exsudados após descongelação e tratamento térmico foram determinados seguindo-se a metodologia descrita por Benjakul e Sutthipan, (2009):

$$\% \text{Exsudados (descongelação e tratamento térmico)} = [(A - B) / A] \times 100$$

Onde, A= peso inicial da amostra (g) e B= peso final da amostra (g).



Figura 4.3 – Pesagem do polvo após a descongelação.

4.3.2 Determinação de pH

A determinação do pH foi efectuada directamente no polvo descongelado ou fresco, em zonas distintas de cada braço de polvo, à temperatura de 20°C. Para isso utilizou-se um potenciómetro, marca Metrohm e modelo 691, munido de um eléctrodo de penetração (Metrohm, Switzerland). Precisão do método: $\pm 0,01$ (escala Sorensen).



Figura 4.4 – Potenciómetro com eléctrodo de punção.

4.3.3 Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Na determinação da capacidade de retenção de água (CRA) seguiu-se a metodologia descrita por Gómez-Guillén et al. (2000). As amostras ($2,0 \pm 0,1g$) foram pesadas sobre papel de filtro, numa balança analítica, METTLER TOLEDO AB 204-S, e colocadas no interior de tubos de centrifugação. A centrifugação foi realizada numa centrifugadora, Megafuge 1.0 R, Heraeus sepatech, à temperatura de 20°C, a 500 rpm e durante 10 minutos. Após a centrifugação, o papel de filtro húmido foi pesado, tendo a amostra sido retirada com uma pinça metálica. O CRA foi expresso em %.

$$\%CRA = \frac{P_2 - P_1}{P_3 - P_1} \times 100$$

P₂, peso do papel de filtro após a centrifugação (g);

P₁, peso do papel de filtro antes da centrifugação (g);

P₃, Peso do papel de filtro + amostra (g).

4.3.4 Determinação de Humidade

Determinou-se a percentagem da humidade segundo a NP 2282 (1991), pelo método de secagem em estufa (modelo MEMMERT) a 103±2°C, até obtenção de massa constante. Os resultados foram expressos em %.



Figura 4.5 – Interior da estufa com as placas de Petri e vareta preparadas.

4.3.5 Determinação da Cinza total

A cinza total determinou-se segundo a NP 2032 (1988), com secagem da toma após a adição de solução de acetato de magnésio, seguida de uma incineração a uma temperatura entre 550°C e 600°C numa Mufla (NABERTHERM). Por fim, determinou-se a massa do resíduo, deduzida desta massa de acetato de magnésio. Os resultados foram expressos em %.



Figura 4.6 – Carbonização com o bico de Bunsen.

4.3.6 Determinação da Proteína Bruta

Para a determinação da composição em proteína bruta foi utilizado o método baseado no descrito na AOAC (1998).

A amostra foi digerida com ácido sulfúrico na presença de um catalisador. Seguiu-se a alcalinização do extracto com excesso de hidróxido de sódio a frio, destilação por arrastamento de vapor para libertação do amoníaco e sua recepção numa solução de ácido bórico, seguida de titulação com uma solução de ácido clorídrico. O teor de azoto total foi calculado em função da quantidade de amónia produzida. O teor de proteína bruta é calculado multiplicando o resultado obtido por um factor convencional de conversão de 6,25; os resultados foram expressos em %.

4.3.7 Determinação da Gordura Total

O teor em gordura foi determinado de acordo com a NP 1974 (1986). Este método baseia-se na hidrólise com uma solução de ácido clorídrico em ebulição, seguindo-se uma filtração, posteriormente a secagem da matéria gorda retida no filtro e extracção pelo éter de petróleo. Por último, a eliminação do solvente por evaporação, secagem e pesagem do extracto.

Os resultados foram expressos em percentagem de gordura total.

4.3.8 Determinação de Cloretos

Determinou-se o teor de cloretos segundo a NP 2929 (1992), pelo método de Volhard. Os resultados foram expressos em percentagem, em massa de cloreto de sódio.

4.3.9 Determinação do Azoto básico volátil total (ABVT)

O teor de azoto básico volátil determinou-se segundo a NP 2930 (1988) pelo método das células de Conway. Os resultados foram expressos em miligramas de amoníaco por 100g do produto.



Figura 4.7 – Células de Conway.

4.3.10 Determinação de Sódio e Potássio

A determinação de sódio e de potássio foi realizada a partir das cinzas. As cinzas depois de pesadas foram colocadas num balão de 25ml, juntamente com 5ml de ácido clorídrico (3M) e o volume do balão foi aferido com água ultra pura (Millipore). Esta solução foi filtrada; retirou-se 10ml de filtrado, no qual se adicionou 5ml de cloreto de cézio (4%) e completou-se o volume para 100ml, com água ultra pura. Foram preparadas em duplicado curvas padrão de sódio, potássio e brancos respectivos.

Com os filtros de sódio e potássio colocados no fotómetro de chama de emissão foram medidas as intensidades da emissão para os padrões e amostras de sódio e potássio, respectivamente.

Os resultados foram expressos em mg/100g de pescado.

$$Na \text{ (mg/100g)} = \frac{C^* \times 25 \times C / 10}{m} \quad K \text{ (mg/100g)} = \frac{C^* \times 25 \times C / 10}{m}$$

C – Média cinzas, (%);

C* – Concentração de sódio ou de potássio, obtido a partir das curvas de calibração respectivas (mg/100ml);

m – massa de amostra (cinza) pesada (g)



Figura 4.8 – Fotómetro de chama de emissão.

4.3.11 Determinação do ácido tiobarbitúrico (TBA)

As amostras que foram analisadas pelo ensaio do ácido tiobarbitúrico (TBA), além de terem sido sujeitas a dois ciclos de congelação (1º ciclo polvo eviscerado inteiro e 2º ciclo polvo triturado e homogeneizado), também tiveram diferentes tempos de armazenamento em congelação.

O nível de oxidação lipídica foi avaliado através da formação de compostos oxidados secundários, como o aldeído malónico, após reacção com o ácido tiobarbitúrico, TBA, por colorimetria, de acordo com o descrito na Norma NP 3356 (1990).

Foi utilizado um espectrofotómetro SHIMADZU, UV-160A ® de absorção UV/VIS de duplo feixe.

O índice de TBA foi expresso em µg de aldeído malónico por kg de músculo.



Figura 4.9 – Espectrofotómetro Shimadzu, UV-160A ®.

4.3.12 Avaliação instrumental

Na caracterização física (determinação da cor, análise da punção simples e força de corte) e sensorial, utilizam-se amostras com um ciclo de congelação e submetidas a tratamento térmico. Após a descongelação, as amostras foram cozidas numa panela de pressão, com pouca água durante 22 minutos. As amostras só foram introduzidas no interior do recipiente quando a água já se encontrava em ebulição. Esta operação foi executada para aproximar as características experimentadas pelo provador das características determinadas na análise física.

4.3.12.1 Determinação da cor

A análise instrumental de cor foi realizada com uma pistola colorimétrica, “Minolta CR-300®”(Minolta, Osaka, Japan). Os resultados obtidos foram expressos de acordo com o sistema de coordenadas C.I.E.Lab. O parâmetro L corresponde à luminosidade que varia entre 0 (preto) e 100 (branco), o parâmetro a corresponde à tonalidade verde/vermelho (-60 é verde e +60 é vermelho) e o parâmetro b corresponde à tonalidade azul/amarelo (-60 é azul e +60 é amarelo). Antes das medições o equipamento foi calibrado com um padrão branco (L =97; a =-4,88; b =7,04). A cor foi medida na superfície de cada corte transversal, do braço de polvo, e tomaram-se dez réplicas por amostra.

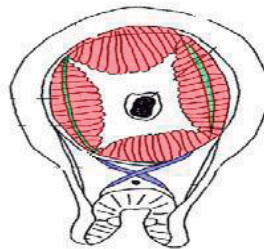


Figura 4.10 – Corte transversal do braço de polvo.

A cromaticidade (C), a tonalidade (H) e a diferença total da cor (ΔE) foram calculadas com as seguintes expressões:

$$C = (a^2 + b^2)^{0,5}$$

$$H = \arctan (b / a)$$

$$\Delta E = ((\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2)^{0,5}$$

Onde ΔL , Δa e Δb são as diferenças entre o parâmetro de cor para as amostras e o parâmetro de cor do padrão branco (Benjakul *et al.* 2012):

4.3.12.2 Análise de textura

Na análise de textura utilizou-se o texturómetro, Texture Analyser Model TAHDi® (Stable Micro Systems, Godalming, UK), com uma célula de carga 25 kg “Interchangeable Low Force Load Cells Model LC/25”.



Figura 4.11 – Texturómetro Model TAHDi®.

Teste de punção simples

O teste de punção simples foi realizado nas 14 amostras (4 polvos congelados do Pacífico, 5 polvos congelados do Atlântico Nordeste e 5 polvos de polvo fresco do Atlântico Nordeste) e para cada amostra efetuaram-se 5 réplicas. A espessura escolhida para cada uma das amostras de braço foi de 16 mm, medida com craveira; utilizou-se uma sonda agulha de 2 mm de diâmetro e a temperatura de trabalho foi de 30°C. As condições de teste programadas foram a velocidade de teste de 1 mm/s e a distância percorrida pela sonda de 12 mm. Obtiveram-se gráficos força *versus* tempo, onde se calcularam os parâmetros: dureza (N), fracturabilidade (N), adesividade (N.s) e distância até à fractura (mm).

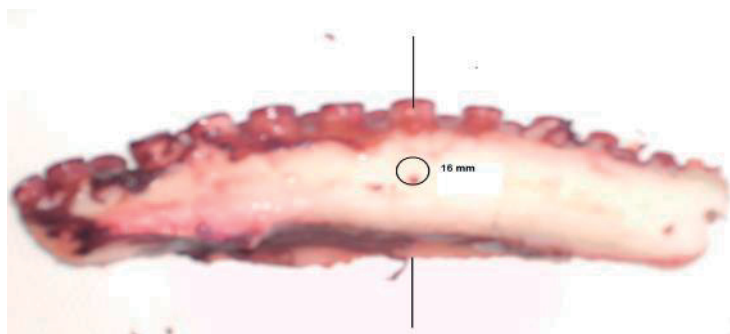


Figura 4.12 – Esquema do braço de polvo onde foram efectuadas a medições de punção simples.

Força de corte

A textura do polvo foi avaliada através da medida de resistência ao corte. As amostras foram cortadas na porção medial de cada braço, sempre no sentido frontal-caudal, com espessura de 20 mm para o polvo congelado do pacífico e 16 mm nos restantes polvos, medido com craveira. O texturómetro, Texture Analyser Model TAHDi® (Stable Micro Systems, Godalming, UK), foi equipado com uma lâmina de corte tipo guilhotina, operando a uma velocidade de 5 mm/s a uma distância de 16 mm para o polvo congelado do pacífico e 12 mm para o polvo congelado e fresco do Atlântico Nordeste, à temperatura de 30°C. Para cada amostra realizaram-se cinco cortes. O pico da força registado, necessário para cortar o polvo, foi expresso em Newton (N).

4.3.12.3 Viscosidade

Após dois ciclos de congelação, as amostras de polvo foram sujeitas a extracção proteica por soluções salinas, de acordo com a técnica apresentada por Borderias *et al.* (1985). O músculo de polvo foi homogeneizado após a adição de uma solução 5% de cloreto de sódio numa proporção de 1:4 (p/v). Posteriormente, filtrou-se o homogeneizado utilizando gaze. As medições de viscosidade realizaram-se sobre este filtrado, depois ter sido ajustado o pH para o valor 7.

O comportamento reológico das amostras foi determinado utilizando um viscosímetro rotacional, VISCOMETER HAAKE VT550, com geometria de cone-placa (PK5, 1°). O viscosímetro possui um banho termostaticado que permite o controlo da temperatura da amostra durante o ensaio. As medições reológicas foram realizadas à temperatura de 20°C, variando a taxa de deformação no intervalo de 100 s⁻¹ a 1000 s⁻¹ e registando quinze leituras de viscosidade. Para cada amostra realizaram-se três réplicas.



Figura 4.13 – Viscosímetro HAAKE VT550®.

4.3.13 Análise sensorial

Para avaliar e identificar as possíveis diferenças entre o polvo congelado e o polvo fresco do Atlântico Nordeste, e também para confrontar a textura sensorial com a textura instrumental, realizou-se uma prova sensorial através da análise quantitativa descrita (QDA – “quantitative descriptive analysis”), numa sala de prova com especificações normalizadas (ISO 8586-2, 2001), a um painel composto por vinte provadores treinados.

A cada provador foi fornecido uma ficha de prova (Figura 4.14) com escala quantitativa, não estruturada e o respectivo glossário (anexo II).

Após o tratamento térmico, as amostras foram apresentadas, fatiadas, com cerca de 1cm de espessura, a uma temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em caixa de Petri. Os resultados das fichas foram convertidos numa escala quantitativa de 1 a 9, do mínimo ao máximo para cada atributo, com o auxílio de um acetato com graduação em cada uma das escalas, no sentido de dividir a escala contínua da ficha de prova em escala graduada com nove secções. Com esta classificação, obteve-se um perfil sensorial de cada provador para cada amostra.

4.4 Análise Estatística

Todos os tratamentos e gráficos foram elaborados pelos “software” Microsoft Excel 2002 (Microsoft Corporation, 2002) e Statistica 6.0 (StatSoft, 2001).

Para avaliar a qualidade dos resultados laboratoriais, obtidos para cada um dos parâmetros foi usada estatística descritiva, através da determinação da média, desvio padrão, erro e intervalo de confiança da média a 95%, por amostra. Para avaliar a existência de diferenças significativas entre os valores médios obtidos para um determinado parâmetro, foram efectuadas análises de variância a um factor (teste de Tukey para comparação de médias).

Os perfis sensoriais de cada provador foram submetidos a classificação aglomerada hierárquica (“Cluster Analysis”). Posteriormente, fez-se a média para cada atributo, usando os resultados de provadores aceites (não aberrantes) para cada amostra. As novas médias sem os aberrantes serviram para construir gráficos em radar para os atributos das duas amostras de polvo, fresco e congelado do Atlântico Nordeste.

Foi utilizada a classificação aglomerativa hierárquica a partir de distâncias euclidianas no espaço, para agrupar classes de elementos com comportamento semelhante. Os resultados foram apresentados sob a forma de um dendograma.

A correlação entre as análises do perfil sensorial e instrumental foi realizada no programa Statistica 6.0..

Resultados e Discussão

5.1 Avaliação da frescura do polvo na lota e fábrica de congelados

A lota, onde o polvo fresco é descarregado, reúne todas as condições, não só as de higiene, como aquelas que facilitam o deslocamento dos pescadores e dos trabalhadores, que desempenham um papel determinante para a qualidade final do pescado até à fase de comercialização ou processamento. A acção de um médico veterinário e de um inspector sanitário assegura o regular funcionamento destes processos. O médico veterinário avalia o estado de frescura do pescado, através da avaliação sensorial de alguns parâmetros. O inspector solicita aos laboratórios competentes que efectuem análises mais objectivas, de modo a complementar e a melhor fundamentar a tomada de decisão, sempre que haja dúvidas sobre o estado de frescura.

Assim que o polvo fresco chega à unidade fabril, acondicionado em dornas com gelo, é novamente avaliado sensorialmente, para determinar o grau de frescura segundo o Reg. (CE) nº 2406/96 do Conselho de 26 de Novembro de 1996. O grau de frescura do polvo foi determinado, utilizando quatro parâmetros (pele, carne, tentáculos e cheiro) e critérios para se atribuir a categoria de frescura: Extra, A e B. A todos os lotes que entraram na unidade fabril, durante o decurso do trabalho experimental, foram atribuídos as categorias de frescura Extra e A (exemplo Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Controlo de recepção de matéria-prima na fábrica de congelados.

Data	14/12/12
Lote	P9201
Espécie	Polvo comum (<i>Octopus Vulgaris</i>)
Origem	Portugal
Proveniência	DOCA PESCA Sines
Temperatura	2.6
pH	6.2
Acondicionamento	Dorna com gelo
Pele	2.7
Carne	2.5
Tentáculos	2.6
Cheiro	2.3
Pontuação	2.45
Categoria de frescura	A

Também, o polvo congelado que chegou à fábrica de congelados para posterior processamento vem acompanhado de registos de qualidade (ABVT, Metais de transição) (Anexo I).

5.2 Avaliação Físico-Química

5.2.1 Quebras na descongelação

Pela observação dos dados verifica-se que o polvo perde peso na descongelação (Tabela 5.2). Parte dos exsudados da descongelação são também formados pela água da vidragem. O polvo do Pacífico Nordeste apresenta maior percentagem de exsudados de descongelação embora não haja uma diferença significativa entre os dois polvos congelados.

Tabela 5.2 – Quebras durante a descongelação (exsudados).

	Polvo congelado Atlântico Nordeste	Polvo congelado Pacífico Nordeste
% Exsudados (descongelação)	9,25 (1,42) ^a	12,50 (1,59) ^a

Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05)

A apresentação de exsudados é inerente no pescado fresco, e relaciona-se com o desenvolvimento do *rigor mortis* no músculo após sacrifício, e o seu efeito sobre o pH. Os factores são intrínsecos mas existem outros que ocorrem durante o processamento: velocidade de refrigeração, temperaturas de armazenamento, congelação, e descongelação (James *et al.*, 2011).

De acordo com Venugopal (2006), se um produto provém de congelação rápida, os exsudados podem variar de 3 a 8%, enquanto nas congelações lentas os exsudados podem exceder os 20%. As grandes quantidades de exsudados são uma indicação do armazenamento prolongado em gelo antes da congelação, do armazenamento em congelação a temperaturas inapropriadas, ou da inadequada descongelação do pescado.

Segundo Alizadeh *et al.*, (2007) e Tironi *et al.* (2010) as congelações praticadas pelos métodos convencionais de congelação, ar forçado e contacto directo por placas, em filetes de salmão e robalo, respectivamente, promovem a formação de cristais grandes e irregulares nos espaços extracelulares, que causam a contração das fibras musculares. Assim, na congelação do polvo do Atlântico Nordeste, pelo método de ar forçado, a localização e tamanho dos cristais poderão ter evoluído da mesma forma.

O tempo de armazenamento em congelação do polvo foi curto (uma semana) para que houvesse fenómenos associados à recristalização, mesmo considerando as condições isotérmicas. Alizadeh *et al.*, (2007) constataram que o tempo relativamente curto em armazenamento sob congelação e a temperatura constante durante o armazenamento, restringiram o crescimento de cristais nos filetes de pescado. Ainda segundo Alizadeh *et al.*, (2007), um método de congelação rápido permite refinar a cristalização, a qual pode ser avaliada através da micro-estrutura celular: cristais pequenos, regulares e igualmente distribuídos pelos meios intra e extracelulares. Todavia, as vantagens podem desaparecer para um prolongado armazenamento em congelação, devido à instabilidade termodinâmica dos cristais de menores dimensões: os pequenos cristais de gelo tendem a fundir e a agregar a outros cristais maiores.

O processo de recristalização no polvo congelado pode estar limitado devido organização do seu músculo. O músculo apresenta uma elevada compartimentação onde as fibras musculares estão orientadas tridimensionalmente e separadas por tecido conjuntivo. Este facto é demonstrado por Tironi *et al.* (2010) e Fernández *et al.* (2008) que afirmam que o processo de recristalização pode ser restringido no músculo de pescado devido à presença de barreiras estruturais.

No polvo congelado do Pacífico Nordeste o “tempering” e a recongelação levaram a flutuações adicionais de temperatura que induziram a recristalização dos cristais de gelo, aumentando o diâmetro médio do cristal e reduzindo o número de cristais.

Estas operações durante o processo de congelação, conduziram a maiores deteriorações nas estruturas das proteínas. As mudanças estruturais, induzidas pelo processo de congelação nas miofibrilhas, provocam a desnaturação das proteínas e a capacidade para reter a quantidade de água inicial.

Frequentemente, o “tempering” é realizado ao ar e prolonga-se por muito tempo, permitindo que o próprio centro do produto atinja temperaturas altas, próximas da fusão do gelo. Os valores obtidos para os exsudados estão relacionados com a evolução do CRA (Tabela 5.6), ou seja, para uma maior capacidade de retenção de água menor a quantidade de exsudados formados durante a descongelação.

Em relação à descongelação, a água resultante da fusão dos cristais de gelo teve a possibilidade de ser reabsorvida pelas proteínas miofibrilhares. No entanto a descongelação em refrigeração pode ter permitido a recristalização, ou seja, o aumento do volume dos cristais que por sua vez causou danos físicos nas fibras musculares.

Embora o armazenamento em congelação do polvo tenha sido curto (uma semana), pode ter influenciado a formação de exsudados. Thanonkaew *et al.* (2008) verificaram que a redução na capacidade de retenção de água das proteínas do músculo de choco era devida à desnaturação contínua de proteínas durante o armazenamento em congelação. Os cristais de gelo provocaram danos nos tecidos e o rompimento de membranas. Como resultado, a água foi libertada (exsudada) a partir do músculo, e em maior quantidade, quando o tempo de armazenamento aumentou. Ao fim de duas semanas no frio ($T=-18^{\circ}\text{C}$) estes autores registaram 6,45% em exsudados.

Também Songsaeng *et al.* (2010) quando submeteram a ostra (*Crassostrea belcheri*) a dois métodos de congelação com velocidades diferentes, verificaram que após a descongelação em refrigeração, a quantidade de exsudado foi maior na congelação lenta e aumentou com o tempo de armazenamento ($T=-20^{\circ}\text{C}$).

5.2.2 Composição química do polvo e pH

Os resultados obtidos para a composição química mostram que são uma boa fonte de proteína e que têm um apreciável conteúdo de cinzas (cerca de 2%). O nível de gordura foi muito baixo ($< 1\%$) daí ser considerado um pescado magro (Vaz-Pires, 2006a). Os resultados encontrados foram muito similares aos observados por outros autores (Ozogul *et al.*, 2008; Prato *et al.*, 2010; Nunes, 2008) (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 – Composição química do polvo congelado em g/ 100g de parte edível.

	Polvo fresco (Atlântico Nordeste, Controlo)	Polvo congelado (Atlântico Nordeste)	Polvo congelado (Pacífico Nordeste)	Polvo ^x fresco (Mediterrâneo, Inverno)	Polvo ^y fresco (Mediterrâneo, Inverno)	Polvo ^z fresco (Atlântico Nordeste)
Proteínas	_____	21,20 (1,15) ^a	17,48 (1,28) ^a	14.83 (0.67)	14,23 (2,25)	15,6
Lípidos	_____	0,64 (0,02) ^a	0,56 (0,03) ^b	0.54 (0.03)	0,74 (0,58)	1,2
Humidade	80,40 (0,54) ^b	80,79 (0,54) ^b	82,99 (0,60) ^a	83.41 (0.08)	81,87 (2,12)	79,90
Cinzas	2,13 (0,11) ^a	2,36 (0,11) ^a	2,46 (0,12) ^a	1.17 (0.01)	1,85 (0,70)	1,86

Índices diferentes têm diferenças significativas ($< 0,05$); x) Ozogul *et al.*, 2008; y) Prato *et al.*, 2010; z) Nunes, 2008.

A dieta, o *habitat*, a estação do ano, o sexo, a espécie são os principais factores que afectam a composição dos ácidos gordos, enquanto que, as mudanças de estação na temperatura da água e os nutrientes, são os principais factores que afectam a

composição do músculo de polvo. Geralmente o conteúdo de lípidos nos cefalópodes aumenta no Outono, porque no Verão e Outono, os nutrientes são mais abundantes do que nas outras estações (Ozogul *et al.*, 2008).

Prato *et al.* (2010) estudaram a influência da dieta no crescimento, no teor de lípidos e na composição de ácidos gordos, de polvos de aquacultura e selvagens, e verificaram que os polvos de aquacultura continham maiores quantidades de proteína e baixos níveis de lípidos.

Segundo Tobin *et al.* (2006), verifica-se que existe uma relação inversa, na quantidade de água e gordura, no polvo congelado.

A humidade nos dois polvos, fresco e congelado do Atlântico Nordeste não revela diferenças significativas, o que prova que o pré-tratamento com soluções salinas e o método de congelação com recurso à vidragem, podem ter contribuído para minimizar estas perdas após a descongelação. Relativamente ao polvo do Pacífico, há diferenças significativas e possui o maior teor de humidade. Possivelmente, as lavagens a que foi submetido o polvo após o “tempering”, poderão ter contribuído para que as suas proteínas incorporassem mais água. Todavia, para este polvo desconhecem-se os dados referentes à sua composição em fresco e ao processo de congelação, realizado no Alasca.

Quanto à percentagem de cinza, não se verifica diferença significativa entre os dois polvos congelados, embora o polvo do pacífico Nordeste contenha maior quantidade de sal. No trabalho de Faustino (2009), concluiu-se que entre o polvo nacional com tratamento, por aditivos, e o polvo nacional sem aditivos, não havia diferenças significativas, onde seria de esperar que houvesse diferenças acentuadas entre as amostras, uma vez que estes aditivos apresentam na sua composição sais, que irão contribuir para o teor de cinzas.

O ciclo de congelação não afectou o teor de proteínas do polvo, mesmo na descongelação, onde segundo Lougovois *et al.* (2008), os fluidos intra e extracelulares, constituídos por proteínas solúveis em água e outros nutrientes, podem ser perdidos devido a uma menor capacidade de retenção de água e à lixiviação de proteínas.

O pH do músculo de polvo dá informação útil acerca da sua condição, ainda que, esta seja indirecta e apresente variabilidade. Segundo Gonçalves (2010), as alterações no pH podem ser usadas como indicador na modulação da conversão de glicogénio em ácido láctico e na degradação dos componentes musculares, por exemplo, proteínas e nucleótidos, durante o armazenamento a longo prazo.

O aumento de pH no pescado fresco deve-se à decomposição, por enzimas endógenos, de compostos de azoto e formação de dimetilamina a partir do óxido de trimetilamina. A libertação de fosfato inorgânico e amoníaco devido à degradação enzimática do ATP, também está associada às alterações no pH.

Tabela 5.4 – Resultados das medições de pH.

	Polvo Fresco Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Pacífico Nordeste
pH	6,04 (0,13) ^b	6,41 (0,13) ^b	7,15 (0,15) ^a

Médias com índices diferentes têm diferenças significativas para $p < 0,05$

O polvo fresco (controlo) apresentou pH ligeiramente acima de 6, valor superior ao encontrado nos mamíferos (Tabela 5.4). O decréscimo de pH após a morte depende grandemente do conteúdo em glicogénio. Embora a pesca do polvo seja passiva, como cefalópode que é, o polvo, apresenta um teor de glicogénio baixo e um metabolismo centrado nas proteínas, em que a fosfoarginina é o fosfogénio utilizado durante o pré *rigor* e que se converte em octopina (composto com carácter básico). O pH final do músculo não diminui muito em relação ao pH do animal vivo (Kato *et al.*, 2009). Aliás, o intervalo de tempo em rigor é curto, seguido de uma actividade autolítica intensa (Vaz-Pires *et al.*, 2008).

Benjakul *et al.* (2009) atribuíram o aumento de pH no músculo de caranguejo (*Scylla serrata*) congelado, à decomposição de compostos de azoto e à degradação enzimática de ATP. Sungsi-in *et al.* (2011) associaram os aumentos de pH na lula, em refrigeração, com a formação de bases voláteis, como foi evidenciado pelos aumentos nos conteúdos em ABVT, trimetilamina e amoníaco.

Também a degradação bacteriana na desaminação de proteínas, péptidos e aminoácidos e formação de trimetilamina podem ter um contributo na alteração de pH (Vaz-Pires *et al.*, 2008).

No caso do polvo, considerando as boas condições higio-sanitárias pós-captura, a refrigeração em gelo e o processamento na indústria de congelados, a degradação bacteriana na desaminação de proteínas, péptidos e aminoácidos e a formação de trimetilamina, podem ter um contributo muito pequeno na alteração de pH. Segundo Lougovois *et al.* (2008), só após o 8º dia em gelo é que se verifica um aumento acentuado de pH no polvo, devido à rápida proliferação microbiana (10^8 – 10^9 UFC/g)

que se reflecte na produção de produtos alcalinos provenientes quer da autólise quer dos metabolitos bacterianos.

Embora a congelação não seja considerada como um meio para inactivar microrganismos, a congelação é uma das formas mais eficientes de retardar a contaminação microbiana, prolongando a fase “lag” da curva de crescimento microbiano (Jaczynski et al., 2006).

O valor de pH do polvo Atlântico Nordeste congelado foi de 6,41, que é ligeiramente superior ao fresco, tendo em conta que foi sujeito a um ciclo de congelação. No trabalho desenvolvido por Faustino (2009), o valor de pH para o polvo congelado e sem aditivos, foi de 6,53.

No caso do polvo congelado do Pacífico Nordeste, os valores de pH aumentaram para 7,15 e existem diferenças significativas quer em relação ao controlo, quer em relação ao polvo congelado do Atlântico Nordeste. Esta subida está intimamente ligada a vários factores de natureza processual. A matéria-prima chega congelada à fábrica (congelado em bloco, vidrado e revestido por película plástica) e é submetida a semi-descongelação/“tempering”, seguida de lavagem e corte, e finalmente é recongelada em túnel estático, a tal como o polvo do Atlântico Nordeste. Em todo este processo houve obrigatoriamente flutuações de temperatura que por sua vez potenciaram alterações nas concentrações de ião hidrogénio livre e iões hidroxilo devido a mudanças no equilíbrio oxidação/redução do músculo pela actividade de enzimas endógenos.

5.2.3 Azoto Básico Volátil Total (ABVT)

Trata-se de um dos métodos mais utilizado na avaliação da qualidade do pescado. A determinação do azoto volátil total inclui, geralmente, a medição da trimetilamina (produzida por deterioração microbiana), dimetilamina (produzida por enzimas autolíticas durante o armazenamento em congelação), amoníaco (produzido por desaminação dos aminoácidos e catabolitos de nucleótidos) e de outros compostos de azoto básico volátil associados com a decomposição dos produtos da pesca (Ozogul, 2009).

Embora seja um método relativamente fácil de realizar, normalmente a avaliação só reflecte estados muito avançados do processo de deterioração, e é considerado pouco fiável para a avaliação de muitas espécies de peixe nos primeiros dez dias de armazenamento. Por exemplo, em refrigeração o ABVT no polvo só aumenta a partir dos 16 dias em gelo, quando a contagem de bactérias atinge 10^8 UFC/g, e a velocidade e

produção de bases voláteis, aparentemente, supera a perda causada pela lixiviação na água do gelo fundido. Este aumento é atribuído principalmente ao amoníaco, produzido a partir da desaminação bacteriana de proteínas, aminoácidos e outros compostos básicos de azoto na carne do cefalópode (Lougovois *et al.*, 2008).

No entanto, este método é particularmente útil para a avaliação da qualidade em cefalópodes. É importante ter em mente, que os valores do ABVT não exprimem o tipo de deterioração (bacteriana e/ou autolítica).

Tabela 5.5 – Resultados de ABVT.

	Polvo fresco do Atlântico Nordeste	Polvo congelado Atlântico Nordeste	Polvo congelado Pacífico Nordeste
ABVT – Azoto Básico Volátil Total (mg NH ₃ /100g)	6,73 (0,66) ^b	9,90 (0,66) ^a	11,22 (0,74) ^a

Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05)

Os valores de ABVT para o polvo fresco e o congelado do Atlântico Nordeste e Pacífico Nordeste estão dentro dos valores da aceitabilidade dos alimentos expressos em mg de ABVT/100g (Tabela 5.5). Segundo Ferro Palma (2011), o pescado branco fresco/refrigerado e congelado, deve apresentar valores iguais ou inferiores a 20mg de ABVT/100g de amostra. Existem diferenças significativas nos dois polvos congelados em relação ao polvo fresco (controlo).

Mais uma vez, e, devido à variante no método de congelação do polvo do Pacífico Nordeste, os gradientes de temperatura aceleraram a actividade autolítica e microbiana, resultando num maior teor em compostos voláteis de azoto. Faustino (2009) estimou o ABVT para o polvo Nacional congelado, sem aditivos, em 8,6 mg/100g e Lougovois *et al.* (2008) obteve aproximadamente 10 mg/100g nos braços de polvo, armazenado em refrigeração. Verifica-se também que ao maior valor de ABVT apresentado pelo polvo congelado do Pacífico Nordeste, corresponde o maior valor de pH.

5.2.4 CRA (Capacidade de Retenção de Água)

O método aplicado para determinar o CRA foi o método da centrifugação, ou seja, a aplicação de uma força mecânica externa, e o resultado foi expresso pela percentagem de exsudado. A quantidade de água libertada neste método é maior do que

nos métodos sem força externa, porque a pressão aplicada induz a libertação de água dos espaços intra e extramusculares. Por vezes, os valores absolutos de CRA determinados pelos métodos que aplicam força externa, não são directamente comparáveis com as medidas dos exsudados, isto acontece quando as medições são desfasadas ou realizadas em etapas diferentes de processamento (Honikel, 2009).

Os valores obtidos para a capacidade de retenção de água logo após a descongelação em refrigeração (Tabela 5.6), revelaram diferenças significativas, com valores inferiores no polvo congelado do Pacífico Nordeste, em relação aos polvos do Atlântico Nordeste.

Tabela 5.6 – Capacidade de Retenção de Água após a descongelação.

	Polvo fresco do Atlântico Nordeste	Polvo congelado Atlântico Nordeste	Polvo congelado Pacífico Nordeste
Capacidade de Retenção de Água (%)	12,30 (0,62) ^b	11,74 (0,62) ^b	14,81 (0,69) ^a
Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05)			

Segundo Benjakul *et al.* (2010), o pescado é muito sensível às alterações de tamanho dos cristais. O crescimento de cristais faz encolher as fibras musculares e mesmo romper a estrutura celular, resultando numa maior probabilidade dos catalisadores oxidativos e enzimas entrarem em contacto com componentes reactivos. Quanto mais alta for a temperatura de armazenamento, mais rápido será o crescimento de cristais. Este crescimento de cristais conduz a uma maior ruptura do tecido, desnaturação proteica e produção de exsudados. A desnaturação das proteínas é um fenómeno de natureza conformacional, no qual as interações proteína-água tornam-se fracas e as interações proteína-proteína aumentam no produto de pesca congelado.

Novamente, o “tempering” contribuiu para um menor CRA do polvo do Pacífico Nordeste face ao polvo do Atlântico Nordeste. A recristalização e o consequente aumento de tamanho de cristais, devido a flutuações na temperatura, provocaram alteração na estrutura conformacional das proteínas (desnaturação).

Fernández-Segovia *et al.* (2012) ao estudarem um método alternativo para diferenciar salmão fresco de salmão congelado, verificaram que os valores da capacidade de retenção de água foram significativamente mais baixos em todas as

amostras quando comparadas com o salmão fresco, devido à desnaturação proteica, que directamente afecta o CRA.

Também, Sánchez-Alonso *et al.* (2012) constataram que, um aumento do tempo de armazenamento da pescada, à temperatura de -10°C induz a diminuição da CRA, a qual decresce de 60% para cerca de 43%, após uma semana de armazenamento. Os mesmos autores concluíram que as perdas em CRA estão relacionadas com as interações proteína-água, e que essas alterações na estrutura secundária das proteínas devem-se à exposição de grupos alifáticos (apolares) no músculo de pescada congelada.

Por outro lado, as diferenças de CRA observadas entre polvo fresco e congelado do Atlântico Nordeste, embora não sejam significativas, podem depender da condição inicial do músculo de polvo, ou seja, da sua frescura. Este facto observou-se no polvo fresco (controlo) que apresentou menor capacidade para reter a água em relação ao polvo congelado do Atlântico Nordeste; é possível que o polvo fresco tenha passado algum tempo em refrigeração, permitindo que houvesse alguma desnaturação proteica. Ocaño-Higuera *et al.* (2011) e Ocaño-Higuera *et al.* (2009) registaram uma diminuição nos valores de CRA, acompanhadas de perda de fluidos e textura, para o cação e a raia frescos, ambos conservados em refrigeração. Relativamente ao polvo congelado do Atlântico Nordeste, o CRA melhorou com o pré-tratamento em soluções salinas e a vidragem após a congelação. A vidragem, tem também uma função estrutural que confere resistência e aumento da capilaridade do músculo, mantendo unidas as fibras e os feixes de fibras e previne a migração de água para formar e avolumar os cristais.

5.2.5 Minerais

5.2.5.1 Sódio e Potássio

O polvo é um animal carnívoro, um predador activo e com elevadas taxas de alimentação, deste modo a maior parte dos elementos são incorporados na sua dieta (Villanueva *et al.*, 2006). O que explica os elevados valores de quase todos os elementos essenciais, particularmente no caso dos polvos que se alimentam de crustáceos, que são ricos nesses elementos.

Os elementos essenciais mais abundantes no polvo, segundo Lourenço *et al.* (2009), são o potássio e o sódio. O potássio contribui para o equilíbrio intracelular, como catião monovalente, enquanto que o sódio é o principal como catião extracelular, assumindo um importante papel no equilíbrio ácido/base.

As elevadas concentrações de sódio encontradas para os dois polvos (Tabela 5.7) estão de acordo com os valores obtidos por Lourenço (2011) e Villanueva *et al.*, (2006). Ao contrário do peixe, o potássio nos cefalópodes é baixo, e no caso dos polvos analisados, são inferiores ao teor de sódio. Assim, a razão Na/K no polvo é muito alta, cerca de 2,40 para o polvo do Atlântico Nordeste e 2,10 para o polvo do Pacífico Nordeste, o qual pode ser visto como um aumento no risco de desenvolvimento de doenças cardiovascular e hipertensão (Astorga España *et al.*, 2007). Lourenço (2011), obteve uma razão Na/K de 2,6 para o polvo do Atlântico Nordeste.

Tabela 5.7 – Minerais (Na e K) expressos em mg/100g de parte edível do polvo.

	Polvo Fresco Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Pacífico Nordeste	Polvo ^x (Atlântico Nordeste)	Polvo ^y (Atlântico Nordeste)
Sódio	515,86 (22,66) ^a	528,91 (22,66) ^a	552,59 (25,34) ^a	570	572 (143) [399 -793] ^z
Potássio	235,24 (16,62) ^a	263,81 (16,62) ^a	220,57 (18,58) ^a	220	223 (38) [154-295] ^z

Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05) x) Lourenço, 2011; y) Lourenço *et al.*, 2009;

z) Domínio de variação.

Como já foi referido, Portugal é um dos países europeus com maior consumo de pescado por habitante, com cerca de 57 kg por ano (DGPA, 2007b), o que corresponde a cerca de 160 g de peixe por dia *per capita*. De acordo com o instituto de Medicina (IOM, 2005), a dose diária recomendada (DDR) é de 1500 mg/dia para o sódio e 4700 mg/dia para o potássio. Assim, a ingestão de 160g de polvo do Atlântico Nordeste contribui com 62,2% de sódio e 7,5 % de potássio para a DDR, respectivamente. No caso do polvo do Pacífico Nordeste, a contribuição para a DDR em sódio é de 58,9% e de 9,0% para o potássio. Estes valores estão de acordo com os resultados obtidos para os polvos analisados por Lourenço (2011).

5.2.5.2 Cloretos

Segundo Thanonkaew *et al.* (2007), o cloreto de sódio é um dos aditivos mais importantes usados para melhorar a textura dos cefalópodes. Durante a congelação, o polvo que sofre pré-tratamento com sal pode absorver mais água, e a migração de água para formar cristais de gelo é retardada. Como resultado, ocorrem menos agregações proteicas (Thanonkaew *et al.*, 2008).

No sistema muscular do polvo, os principais componentes transportados são água, sais (Na^+ e Cl^-) e proteínas, que são solúveis em soluções salinas. Podemos considerar o seguinte modelo físico simplificado: músculo de polvo formado por uma fase sólida proteica e uma fase líquida, onde a água, NaCl e proteínas solúveis são os principais componentes, e uma solução externa salina contida em dornas, onde o polvo é imerso durante 16 a 24 horas. A transferência de massa é muito complexa, visto o pescado, e em particular o polvo, ser um sistema multicomponente que altera em contacto com as soluções salinas, devido à desnaturação proteica e agregação (Thorarinsdottir *et al.*, 2010).

Tabela 5.8 – Quantidade total de iões Cl^- expressa em percentagem de cloreto de sódio.

	Polvo Fresco Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Pacífico Nordeste
Cloretos	5,06 (0,03) ^b	5,14 (0,03) ^b	5,28 (0,04) ^a

Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05)

Os efeitos de “salting-in” nas proteínas do músculo são fenómenos muito estudados. Para pequenos aumentos acima da força iónica fisiológica (> 0,15M), os espaços interfibrilares aumentam, devido aos efeitos electrostáticos; para concentrações superiores a 0,5M, os filamentos grossos, despolimerizam e o volume das miofibrilhas aumenta, alcançando o máximo nas concentrações entre 0,8 e 1M (Thorarinsdottir *et al.*, 2011).

As concentrações salinas utilizadas na fábrica para processar o polvo congelado variam entre 4 a 6% (0,68M a 1M). As humidades, quer do polvo congelado do Atlântico Nordeste quer do Pacífico Nordeste aumentaram face ao polvo fresco (Tabela 5.3), o que está de acordo com os estudos de Schmidt *et al.* (2008) e Thorarinsdottir *et al.* (2010). A explicação para este facto, deve-se ao aumento dos espaços intercelulares, causados pelos iões Cl^- ; estes iões formam um complexo com as proteínas miofibrilares que provocam o alargamento dos espaços entre os filamentos de actina e miosina, aumentando assim a capacidade de retenção de água (CRA). O Cl^- estabelece interacções com os filamentos de actina e miosina, aumentando a carga negativa, a qual amplifica as forças repulsoras entre os filamentos, levando à dilatação do músculo.

Também a actividade proteolítica, no músculo de polvo fresco é muito intensa (Vaz-Pires *et al.*, 2008), pelo que, a adição de sal pode também ter contribuído para o

melhoramento da textura. Sabe-se que as actividades da quimotripsina, tripsina, collagenase e elastase são estimuladas pelo aumento da concentração salina, mas também diminuem novamente, quando a concentração de sal é elevada, cerca de 10%, devido à desnaturação. Thorarinsdottir *et al.* (2011) verificaram que no músculo de bacalhau, o sal esteve envolvido na ruptura ou enfraquecimento das ligações inter/intramoleculares cruzadas do colagénio, as quais são importantes para a estabilidade da estrutura em tripla hélice da molécula. Sendo o polvo um dos pescados que possui bastante tecido conjuntivo, o pré-tratamento com sal antes da congelação melhora a textura. De facto, verificaram-se quer na análise sensorial quer na análise com o texturómetro, menores durezas no polvo congelado do Atlântico Nordeste em relação ao polvo fresco (ver discussão análise sensorial, punção simples e resistência ao corte).

As diferenças encontradas na concentração em cloretos, para o polvo congelado Nacional e o polvo fresco, não foram significativas, apesar de existirem diferenças notórias entre o polvo congelado do Pacífico com os restantes dois polvos (tabela 5.8); desconhecendo-se, se no Alasca o polvo levou ou não, pré-tratamento com sal antes da congelação.

O polvo, assim como os restantes cefalópodes, possuem uma estrutura muscular distinta do peixe, ou seja, as fibras musculares estão dispostas num arranjo tridimensional; a difusão de sal das partes internas do músculo está provavelmente abaixo do nível de “salting-out” ($> 1M$). Por esta razão, as proteínas do músculo podem ter começado a avolumar-se, resultando numa melhoria das propriedades funcionais das proteínas, aumentando a sua solubilidade para concentrações de sal entre 5 e 6%. Embora o período que esteve em contacto com os meios salinos tenha sido de curta duração, aproximadamente 16 horas. Nos trabalhos de Schmidt *et al.* (2011) e Thorarinsdottir *et al.* (2011) o tempo em imersão é de 1 e 3 dias, respectivamente, o sal difunde-se até às partes internas do músculo e as diferenças entre as várias camadas decrescem. Com o passar do tempo, a solubilidade das proteínas decresce devido ao efeito de “salting-out”.

5.3 Tratamento térmico do polvo

5.3.1 Quebras no tratamento térmico

Os produtos congelados com grandes cristais de gelo, após a descongelação sofrem perdas de exsudados, e revelando-se pouco apelativos, mais secos e fibrosos. Ocorrem perdas de qualidade na formação dos exsudados após tratamento térmico (Tabela 5.9). Além das perdas na descongelação e cozedura, a capacidade de reter água pelo polvo tem um papel crucial na sua textura final. Entre os resultados obtidos não existem diferenças significativas, todavia, o polvo congelado do Atlântico Nordeste teve a maior quebra após a cozedura.

Tabela 5.9 – Quebras no tratamento térmico de polvo.

	Polvo fresco do Atlântico Nordeste (controlo)	Polvo congelado do Atlântico Nordeste	Polvo congelado do Pacífico Nordeste
Quebras no Tratamento Térmico (%)	35,35 (2,29) ^a	42,05 (2,29) ^a	33,40 (2,56) ^a
Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05)			

As consideráveis perdas na cozedura do polvo devem-se à agregação e à desnaturação das proteínas do seu músculo induzidas pelo calor, o que conduziu à diminuição da capacidade de retenção de água das proteínas. Na verdade, as proteínas desnaturadas formadas durante a conservação em congelação, estão mais susceptíveis à desnaturação pelo calor, causando severas agregações de proteínas. Estes factos foram verificados por Benjakul *et al.* (2009): a conservação em congelação, à temperatura de -20°C, durante 12 semanas, provocou o aumento de exsudados na cozedura de caranguejo (*Scylla serrata*) a vapor; tendo-se registado na primeira semana, um valor de 35% nas quebras de cozedura.

As quebras de cozedura no presente trabalho foram inferiores às quebras observadas no polvo congelado do Atlântico Nordeste sem tratamento com aditivos e vidragem, por Faustino (2009). A protecção devido à vidragem e o pré-tratamento com sal no polvo do Atlântico Nordeste, permitiu de alguma forma reduzir as perdas de água na cozedura. O sal melhorou as propriedades funcionais das proteínas. A técnica de vidragem, assegurou as menores perdas de humidade, por sublimação durante o armazenamento em congelação e a deslocalização da água no músculo.

A vidragem reduz o impacto que tem o armazenamento em congelação na deterioração da qualidade do pescado. Outro argumento para a implementação da vidragem prende-se com o facto de que se o produto for submetido a armazenamento sob congelação inadequado, a camada de gelo vidrado evapora, em vez da própria água do tecido.

5.3.2 Cor

Dos resultados da Tabela 5.10, infere-se que, a luminosidade, é maior no polvo fresco e polvo congelado do Pacífico, para os quais não há diferenças significativas. Todavia o polvo congelado do Atlântico apresentou o valor de L menor, com diferenças significativas em relação aos restantes polvos.

Tabela 5.10 – Parâmetros da CIELab da cor, cromaticidade, tonalidade, ΔE .

Parâmetros da cor	Polvo fresco do Atlântico Nordeste (controlo)	Polvo congelado do Atlântico Nordeste	Polvo congelado do Pacífico Nordeste
L	81,29 (0,38) ^a	78,94 (0,38) ^b	81,99 (0,42) ^a
a	-2,23 (0,11) ^b	-0,97 (0,11) ^a	-1,24 (0,12) ^a
b	2,99 (0,22) ^b	7,91 (0,22) ^a	0,59 (0,24) ^c
Cromaticidade	3,80 (0,19) ^b	8,09 (0,19) ^a	1,62 (0,22) ^c
Tonalidade (H)	129,18° (6,48) ^b	97,06° (6,48) ^c	181,54° (7,25) ^a
ΔE	16,50 (0,31) ^b	18,62 (0,31) ^a	17,22 (0,34) ^b

Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05); ΔE foi comparado com o padrão branco (L=97; a=-4,88; b= 7,04).

No que diz respeito ao parâmetro a os dois polvos congelados não têm diferenças significativas; o polvo fresco é o mais esverdeado (menos avermelhado) e revela diferenças significativas em relação aos polvos congelados.

O polvo congelado do Atlântico Nordeste perdeu mais água durante a cozedura (Tabela 5.9) o que pode revelar-se pelo menor valor no parâmetro L. O facto do polvo nacional ter sido congelado sem embalagem, poderá ter influenciado a cor após a cozedura; a cor amarela b, que é mais pronunciada no polvo nacional, pode ter-se desenvolvido devido a uma desidratação superficial, pois o gelo situado na parte externa do produto sublima. Esta desidratação superficial favorece os fenómenos de

desnaturação das proteínas e a oxidação dos lípidos (Vaz-Pires, 2006a). Em relação ao polvo do Pacífico, que foi na origem congelado em bloco, desconhece-se se houve ou não acondicionamento durante a congelação. Todavia este foi submetido a vidragem na origem, o que lhe permitiu uma protecção mais efectiva durante a conservação em congelação e transporte.

A cromaticidade é maior no polvo congelado do Atlântico Nordeste do que no polvo congelado do Pacífico Nordeste, ou seja, menos saturado (baço). O primeiro polvo apresenta cores mais vivas, maior pureza ou intensidade da cor, e é também o polvo que tem um valor de *a* que se aproxima mais da cor vermelha. A menor desnaturação das proteínas associadas aos pigmentos pode explicar esta evolução. Os crustáceos são uma das principais fontes alimentares do polvo, ricos em carotenos e associados a proteínas, deste modo dieta pode influenciar a cor do polvo cozido. O calor provoca a desnaturação das proteínas do músculo, assim como as proteínas que estão ligadas aos pigmentos carotenóides, como consequência, estes pigmentos exibem a sua própria cor, que varia entre laranja e vermelho. Isto verifica-se quando há um aumento, em ambos os valores, *a* e *b*, como se constata para o polvo congelado do Atlântico Nordeste, que também foi observado por Benjakul *et al.* (2008), no estudo da cor do camarão tigre (*Penaeus monodon*) cozido.

O polvo congelado do Atlântico Nordeste apresenta o menor valor de tonalidade, que se situa no segundo quadrante, próximo da cor amarela. Embora tenha havido diferenças significativas nos valores de tonalidade entre os três polvos, o polvo do Atlântico Nordeste é aquele que menos se afasta do polvo fresco (controlo). Tantasuttikul *et al.* (2011) verificaram que as evoluções das tonalidades da lula (*Photololigo duvaucelii*) e do choco (*Sepia aculeata*) durante a conservação em refrigeração foram diferentes, assim, enquanto a tonalidade da lula diminuiu, aproximando-se da cor vermelha, pelo contrário, a tonalidade do choco aumentou, afastando-se do vermelho. Estas observações também se relacionaram com a evolução do valor *a*, ou seja, no final da conservação o choco apresentou o valor de *a* mais baixo do que a lula. Mais uma vez, o tipo e quantidade de pigmentos presentes no músculo contribuíram para estas evoluções.

A diferença de cor, ΔE , também é mais pronunciada no polvo congelado do Atlântico Nordeste apresentando diferenças significativas. De acordo com Benjakul *et al.* (2012), os valores mais baixos explicam-se pela oxidação dos pigmentos, que se tornam incolores ou não absorvem a luz visível. Faustino (2009) registou no seu

trabalho que o parâmetro b foi maior para o polvo Nacional sem aditivos, assim como, a cor a foi menos negativa em relação ao polvo Nacional com tratamento.

5.3.4 Punção simples

No que se refere às propriedades reológicas, em termos gerais, quer a semi descongelação no método de congelação por ar forçado em túnel estático para o polvo do Pacífico Nordeste, quer somente o método de congelação por ar forçado em túnel estático para o polvo fresco do Atlântico Nordeste, influenciaram a estrutura das amostras.

Nos três primeiros parâmetros reológicos, existem diferenças significativas entre todas as amostras (Tabela 5.11). Todavia, na adesividade não há diferenças significativas entre o polvo fresco (controlo) e o polvo congelado do Atlântico Nordeste, porém, o polvo congelado do Pacífico Nordeste apresenta diferenças significativas face aos restantes polvos.

Tabela 5.11 – Medidas de punção simples.

	Polvo fresco do Atlântico Nordeste (controlo)	Polvo congelado do Atlântico Nordeste	Polvo congelado do Pacífico Nordeste
Fracturabilidade (N)	3,97 (0,28) ^b	2,81 (0,27) ^c	5,40 (0,31) ^a
Distância até à Fracturabilidade (mm)	9,93 (0,35) ^b	7,65 (0,34) ^c	12,92 (0,39) ^a
Dureza (N)	4,60 (0,19) ^b	3,33 (0,18) ^c	5,53 (0,21) ^a
Adesividade (-N.s)	26,84 (1,25) ^a	27,53 (1,22) ^a	19,75 (1,40) ^b

Índices diferentes têm diferenças significativas (< 0,05)

O polvo do pacífico apresentou maior dureza, fracturabilidade e uma distância percorrida até à fractura maior do que a do polvo congelado Nacional. A adesividade do polvo do Pacífico é a menor, em termos absolutos, entre os três polvos. O tamanho e a forma do pescado muitas vezes tornam a preparação de amostras homogêneas uma tarefa difícil. O polvo originário do Pacífico apresenta maior porte. Segundo Sanchez-Alonso *et al.* (2011), quando as análises são realizadas no músculo do pescado, a sua complexa estrutura em termos de organização e orientação das fibras e tecido

conjuntivo, assim como, a fragilidade de toda a estrutura, são factores que têm de ser levados em conta. Outros aspectos que afectam as medições são a compressão exercida e a temperatura aquando da utilização de amostras submetidas a tratamento térmico; isto conduz a erros nas medições.

Como a análise reológica é realizada após o tratamento térmico das amostras de polvo, o tempo de cozedura sob pressão é um factor de grande importância para a evolução da textura do polvo. A sua optimização em 22 minutos, realizado por Faustino (2009), permitiu comparar a textura sensorial e objectiva dos polvos congelados com e sem aditivos. De acordo com Katsanidis (2008), a solubilização do tecido conjuntivo melhora a tenrura do polvo, enquanto a desnaturação pelo calor das proteínas miofibrilares geralmente causa endurecimento. No pescado, o colagénio forma poucas ligações cruzadas e tem elevada solubilidade nas soluções ácidas diluídas comparado com o colagénio de animais terrestres de sangue quente.

5.3.3 Força de corte

A congelação afecta a tenrura, certamente por haver durante este processo a rotura das membranas celulares. No presente trabalho, registaram-se valores de força de corte ligeiramente mais baixos para o polvo congelado em relação ao polvo fresco, embora a diferença entre os valores não seja significativa (Tabela 5.12).

Estes resultados estão de acordo com Lagerstedt *et al.* (2008), que observaram que os valores da força de corte da carne congelada, sujeita a tratamento térmico, diminuíram, e as perdas de exsudados aumentaram com o tempo em congelação. O mesmo foi observado em duas espécies de camarão, através do microscópio óptico, por Sriket *et al.* (2007). Para estes autores a desnaturação proteica e a ruptura do endomísio, induzida pela congelação/descongelação, possivelmente provocaram a perda da estrutura compacta; a estrutura mais solta e a ruptura das fibras musculares foram coincidentes com o menor valor para a força de corte no camarão.

Tabela 5.12 – Medidas de resistência ao corte (força de corte).

	Polvo fresco do Atlântico Nordeste (controlo)	Polvo congelado do Atlântico Nordeste	Polvo congelado do Pacífico Nordeste ^x
Força máxima (N)	17,63 (0,74) ^a	16,16 (0,76) ^a	25,72 (3,55)

Médias com índices diferentes têm diferenças significativas para $p < 0,05$; x) Devido a outras condições operacionais no corte, não se fez a análise de variância.

Também Tantasuttikul *et al.* (2011) verificaram que as forças, de corte nos músculos cozidos da lula e do choco, mostraram menor resistência ao corte do que no estado fresco. A explicação passou pelo músculo tornar-se mais suave, como resultado da degradação e das alterações da rede das fibras musculares, mas também, devido à cozedura em água quente que danifica o tecido conjuntivo, desaparecendo por solubilização e gelatinização.

Quando Kong *et al.* (2008) aplicaram calor no músculo de salmão, a solubilidade e gelatinização do seu colagénio aumentaram significativamente com o tempo de aquecimento, e muitas destas alterações ocorreram ao redor dos 20 minutos de aquecimento ($T=121^{\circ}\text{C}$), para o qual a força de corte é menor. Após este tempo, e com a continuação do aquecimento, aumenta a dureza causada pela desnaturação e agregação das proteínas miofibrilares, e o efeito de amaciamento conferido pela solubilização do colagénio, fica para segundo plano. Segundo Katsanidis (2008), o colagénio nos cefalópodes é também responsável pela dureza do músculo. O polvo não tem esqueleto interno e tem de realizar tarefas *in natura*, diferentes dos demais organismos aquáticos, e consequentemente, o seu músculo está estruturado para suportar maior tensão.

No trabalho de Castro e Silva, (2009), comparou-se o polvo congelado com o polvo refrigerado. O primeiro revelou menores forças de corte para um tempo de cozedura análogo ao aplicado no presente trabalho, 22 minutos.

Não se fez a análise de variância do polvo congelado do Pacífico Nordeste, porque o tamanho e diâmetro dos braços foi superior ao polvo Nacional e a distância percorrida no corte foi maior. O que está de acordo com Benjakul *et al* (2008); a correlação entre o tamanho do camarão e a resistência ao corte, indicam que o tamanho dos feixes de fibra muscular têm um grande impacto na tenrura da carne. Assim, devido ao menor tamanho da cauda de camarão, a menor resistência à força aplicada foi evidenciada pelo valor mais baixo da força de corte.

A tenrura do cefalópode também está relacionada com a degradação do tecido muscular através de enzimas proteolíticas (autólise). A recristalização pode destruir os lisossomas e induzir a libertação de enzimas, que irão participar na degradação das proteínas miofibrilares.

5.3.5 Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada no polvo fresco do Atlântico Nordeste e no polvo congelado do Atlântico Nordeste.

Os elementos do painel de provadores usaram fichas de prova descritas no ponto 4.3.13, para avaliar as amostras. Na Tabela 5.13 estão organizados os valores dos atributos da ficha de prova.

Elaboraram-se perfis sensoriais, reológicos e físico-químicos em que os atributos foram agrupados em quatro conjuntos: aspecto visual e parâmetros físicos (Figura 5.1), cheiro (Figura 5.2), sensações tácteis bucais e parâmetros reológicos (Figura 5.3), sabor e parâmetros químicos (Figura 5.4) e flavour, persistência e gosto residual (Figura 5.5).

Tabela 5.13 – Atributos da ficha de prova.

Atributos		Polvo Fresco Atlântico Nordeste	Polvo Congelado Atlântico Nordeste
Aspecto Visual	Brilho	5,21 ^a (0,53)	3,38 ^b (0,50)
	Cor	3,15 ^a (0,63)	3,38 ^a (0,57)
Cheiro	Intensidade do Cheiro	4,50 ^a (0,49)	5,50 ^a (0,46)
	Cheiro a algas/maresia	4,86 ^a (0,60)	4,44 ^a (0,56)
	Cheiro a tinta	2,45 ^a (0,50)	2,43 ^a (0,45)
Sensações Tácteis Bucais	Adesividade	3,64 ^a (0,47)	3,12 ^a (0,44)
	Dureza	5,29 ^a (0,45)	3,47 ^b (0,43)
	Elasticidade	5,29 ^a (0,51)	3,81 ^b (0,48)
	Fracturabilidade	3,93 ^a (0,50)	4,12 ^a (0,46)
Sabor	Doce	2,00 ^a (0,38)	3,08 ^a (0,38)
	Salgado	2,92 ^a (0,54)	2,79 ^a (0,52)
	Amargo	1,64 ^a (0,25)	1,50 ^a (0,26)
	Tinta	1,82 ^a (0,38)	1,92 ^a (0,36)
Flavour	Intensidade do Flavour	5,29 ^a (0,55)	4,56 ^a (0,51)
	Azedo	1,56 ^a (0,29)	1,83 ^a (0,34)
	Algas Marinhas	4,42 ^a (0,45)	2,87 ^b (0,44)
	Tinta	1,82 ^a (0,38)	1,92 ^a (0,36)
Persistência		4,29 ^a (0,40)	4,06 ^a (0,38)
Gosto Residual		3,57 ^a (0,54)	4,12 ^a (0,50)

Índices diferentes têm diferenças significativas ($p < 0,05$).

A partir da figura 5.1, verifica-se que quanto à cor e ao seu brilho, determinados sensorialmente, a cor é semelhante para os dois polvos, enquanto que no brilho verifica-se uma diferença significativa; a luminosidade L apresenta também diferenças significativas (Tabela 5.10). A perda de água após o tratamento térmico, que foi superior no polvo congelado, pode ter influência no brilho. Relativamente à cromaticidade, o polvo congelado apresenta maior qualidade de cor, caracterizada por uma maior tendência para as cores vivas (rosa), embora em termos sensoriais, não tenha havido diferenças significativas para o atributo cor. Contudo, o brilho foi significativamente superior no polvo fresco.

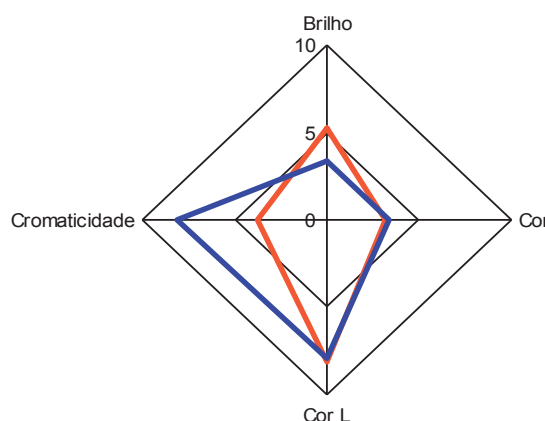


Figura 5.1 – Valores médios dos atributos correspondentes ao aspecto visual e parâmetros físicos das amostras. (Polvo Fresco do Atlântico Nordeste—; Polvo Congelado do Atlântico Nordeste— (multiplicou-se o valor da luminosidade por 0,1 para facilitar a sua representação gráfica)).

Relativamente, aos atributos sensoriais do cheiro não se verificaram diferenças significativas entre as amostras. A intensidade do cheiro revelou-se mais intensa no polvo congelado, mas o atributo cheiro a algas/maresia foi maior no polvo fresco (Figura 5.2). Estes resultados estão de acordo com os registados na Análise Quantitativa Descritiva da corvina cozida (Borges *et al.*, 2007). O atributo sensorial característico do pescado cozido, a lembrar algas marinhas, apresentou um valor médio de intensidade superior para a corvina fresca que foi diminuindo de intensidade ao longo do tempo em conservação. Também Moreira *et al.*, (2013) concluíram que o tratamento térmico intensificou os aromas e odores da solha, mas o armazenamento em refrigeração (2 semanas) diminuiu a fracção de voláteis, responsáveis pelos aromas da solha cozida.

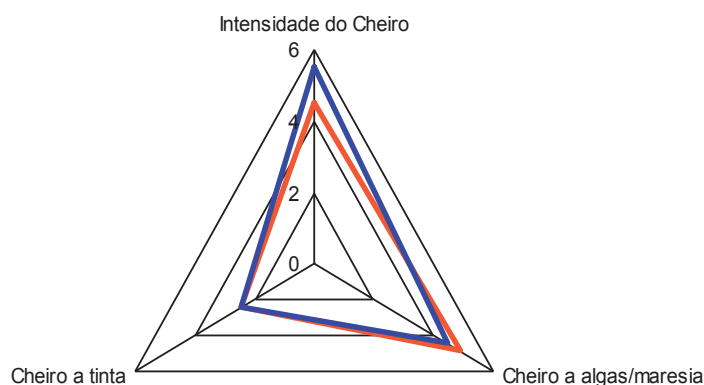


Figura 5.2 – Valores médios dos atributos correspondentes ao cheiro das amostras. (Polvo Fresco do Atlântico Nordeste — ; Polvo Congelado do Atlântico Nordeste —).

Quanto ao sabor, não houve diferenças significativas nos atributos aplicados aos polvos (Figura 5.3). Quer o sabor salgado (sensorial), quer o teor de cloretos (analítico) foram muito semelhantes para ambos os polvos.

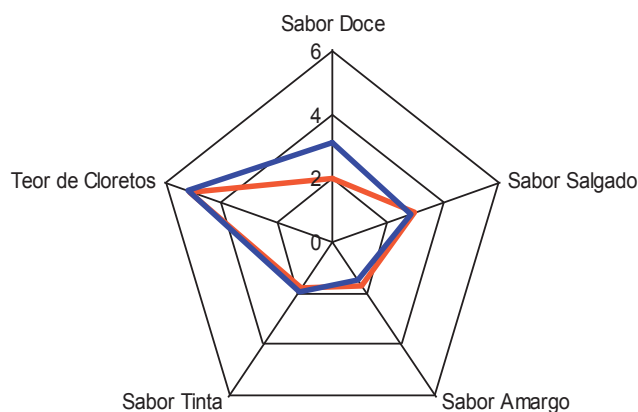


Figura 5.3 – Valores médios dos atributos correspondentes ao sabor das amostras. (Polvo Fresco do Atlântico Nordeste — ; Polvo Congelado do Atlântico Nordeste —).

Apesar de não haverem diferenças significativas, registou-se maior pontuação no sabor doce para o polvo congelado do Atlântico Nordeste, provavelmente devido à solução açucarada utilizada na água de vidragem. Este atributo doce, é posto em causa por ser indesejável ao consumidor, como constataram Pan *et al.* (2008); outros crioprotectores são usados para reduzir a doçura, mantendo no entanto, o mesmo efeito protector. Sem a utilização de crioprotectores, Sveinsdóttir *et al.* (2010) constataram que na análise descritiva qualitativa do bacalhau (*Gadus morhua*), o sabor doce diminuiu ao longo do armazenamento em congelação. Erickson *et al.* (2007) verificaram que as perdas de componentes nos exsudados de camarão congelado, devido à possível recristalização durante o armazenamento, podiam explicar a diminuição no sabor doce do camarão congelado. Em relação à corvina (*Micropogonias furnieri*), também o seu sabor doce, agradável e semelhante a carne de crustáceo, diminuiu com o tempo de conservação em gelo (Borges *et al.*, 2007).

Apesar de ter havido pré-tratamento com soluções salinas no polvo, antes da sua congelação, não houve diferenças significativas no sabor salgado entre os dois polvos. A transferência de massa é muito complicada no pescado e em particular no polvo, visto que se trata de um sistema muscular com um arranjo tridimensional de fibras e membranas, que se altera durante o processo de tratamento com sal devido à contínua solubilização/desnaturação de proteínas. O músculo do polvo possui, mesmo sem tratamento, uma concentração elevada de sal, pelo que, os gradientes, devido à concentração, são pequenos para permitir taxas elevadas de difusão de sal, uma vez que as soluções aplicadas têm concentrações compreendidas de 4 a 6% em sal. De facto, há uma ligeira melhoria da retenção de água (Tabela 5.6) no polvo congelado face ao polvo fresco, o qual não sofreu pré-tratamento com sal.

A pequena quantidade de sal que entrou no músculo do polvo permitiu, por “salting-in”, aumentar as interacções proteína-água em detrimento das interacções proteína-proteína e assim, estabilizar as propriedades funcionais do músculo (Thorarinsdottir *et al.*, 2011).

Schmidt *et al.* (2008) atribuem a entrada de água pura e fluxo de sal para os espaços intercelulares, aos fenómenos de sucção (forças capilares). Para níveis de “salting-out”, os espaços extracelulares aumentam, favorecendo altas taxas de difusão. Por outro lado, o volume das células musculares durante o “salting-in” desacelera as taxas de difusão, e a entrada de sal no músculo para os espaços/canais extracelulares é menor. As forças capilares são muito fortes entre as miofibrilhas e somente pressões

elevadas podem remover a água desta região do músculo. No espaço extracelular, a porosidade do músculo é grande e as forças capilares são fracas. Assim, o líquido é removido com maior facilidade dos espaços extracelulares do que nas miofibrilhas.

No que diz respeito ao flavour, destaca-se o flavour a algas marinhas para o qual há diferenças significativas nos dois polvos (Figura 5.4). Possivelmente, durante o pré-tratamento e o processo de congelação do polvo, houve uma evolução nos aromas devido a reacções enzimáticas que fizeram desaparecer a inosina e outros compostos azotados, que são responsáveis pelo flavour no pescado fresco. Nos restantes atributos do flavour não existem diferenças significativas entre os dois polvos.

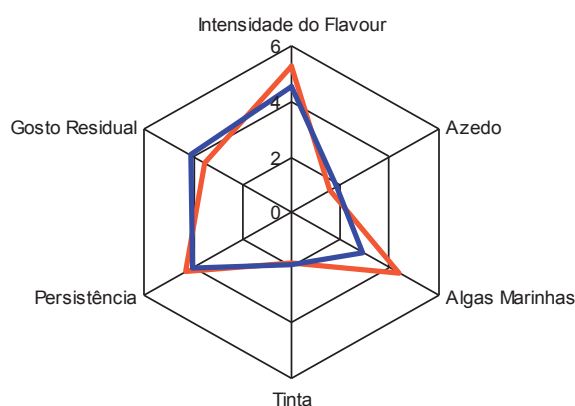


Figura 5.4 – Valores médios dos atributos correspondentes ao flavour, persistência e gosto residual das amostras. (Polvo Fresco do Atlântico Nordeste — ; Polvo Congelado do Atlântico Nordeste —).

Na dureza sensorial houve diferenças significativas entre as duas amostras, sendo o polvo fresco o mais duro (Figura 5.5). Estas observações também evoluíram da mesma forma para a dureza estimada instrumentalmente. A fracturabilidade reológica apresentou diferenças significativas entre as amostras, com o polvo fresco a apresentar maior fracturabilidade, mas ao nível sensorial não houve diferenças, provavelmente porque o provador não detectou ou não se familiarizou com o atributo. Nas adesividades também não houve diferenças significativas. No que diz respeito à elasticidade sensorial, o polvo fresco tem uma maior elasticidade significativamente superior face ao polvo congelado. Sveinsdóttir *et al.* (2009) também demonstraram por aplicação da QDA que o bacalhau (*Gadus morhua*) congelado, submetido a tratamento térmico, apresentou a menor dureza e elasticidade em relação ao bacalhau fresco. Também o

camarão congelado (*Penaeus setiferus*), avaliado por análise descritiva revelou menor elasticidade em relação ao camarão fresco (Erickson *et al.*, 2007).

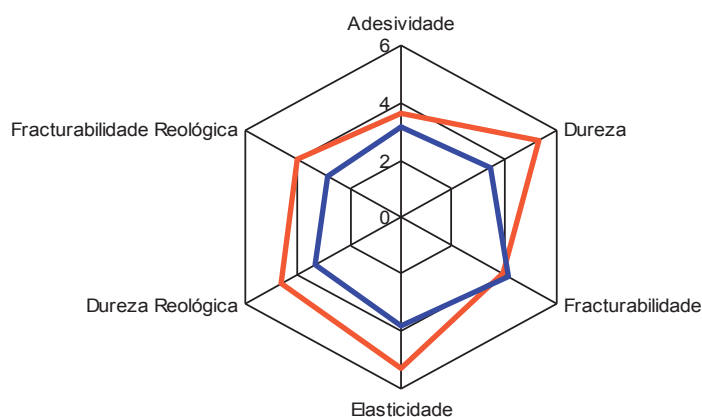


Figura 5.5 – Valores médios dos atributos das sensações táteis bucais e parâmetros reológicos das amostras. (Polvo Fresco do Atlântico Nordeste—; Polvo Congelado do Atlântico Nordeste—).

5.4 Influência do tempo na conservação em congelação

5.4.1 Viscosidade

A estabilidade do polvo, face ao tempo de armazenamento em congelação, foi avaliada através da monitorização do seu comportamento reológico. De acordo com Laranjinha (2009), o prazo de validade para o polvo é de 24 meses desde a data de congelação ($T=-18^{\circ}\text{C}$). Nesta empresa, a todos os produtos com prazo de validade ultrapassado, ou inferiores a 6 meses e que ainda se encontrem em stock, realiza-se uma avaliação, e se forem aprovados, é-lhes atribuído um novo prazo de validade, sendo este de 10 meses a partir da data da referida análise.

Há a necessidade de realizar testes de estabilidade acelerados, porque os testes em tempo real são incompatíveis como o controlo de qualidade a nível industrial. Assim, os ciclos de congelação, a descompartimentação do músculo e a temperatura à qual foram preparadas as amostras e também a determinação da viscosidade ($T=20^{\circ}\text{C}$) promoveram o “envelhecimento” acelerado, permitindo desta forma, monitorizar a resistência do músculo de polvo. O modelo da lei da potência ou de Ostwald-de-Waele, provou ajustar-se aos dados da taxa de deformação e força de corte, e determinar os índices reológicos, n e k , para os diferentes tempos de armazenamento em congelação do polvo (Tabela 5.14).

A viscosidade aparente das dispersões decresce com o aumento da taxa de deformação, pelo que as dispersões são classificadas como fluidos pseudoplásticos. O coeficiente de consistência, K , indica o grau de resistência do fluido durante o escoamento. O K aumenta com a concentração de proteína extraída e os índices de comportamento reológico, n , são menores que a unidade.

Tabela 5.14 – Parâmetros reológicos das dispersões proteicas de polvo congelado para diferentes tempos de armazenamento em congelação.

Dispersão de proteínas	Temperatura (°C)	Tempo (semanas)	Coeficiente de consistência – K (Pa.s ⁿ)	Índice de Comportamento Reológico (n)	Coeficiente Regressão (r^2)
Polvo	20	0	0,5412 (0,1504)	0,3649 (0,0456)	0,9903
Congelado		7	0,4573 (0,1439)	0,3911 (0,0383)	0,9902
do		9	0,3367 (0,0229)	0,4115 (0,0113)	0,9912
Atlântico		13	0,2181 (0,0330)	0,4729 (0,0347)	0,9900
Nordeste		14	0,1985 (0,0155)	0,5010 (0,0081)	0,9891
Polvo	20	10	0,3397 (0,0256)	0,4314 (0,0132)	0,9892
Congelado		14	0,1769 (0,0239)	0,5223 (0,0211)	0,9914
do Pacífico		15	0,1088 (0,0026)	0,6072 (0,0290)	0,9912
Nordeste		16	0,0719 (0,0081)	0,6480 (0,0382)	0,9907

As extracções do músculo de polvo são dispersões de moléculas e de partículas assimétricas, que apresentam no repouso um estado desordenado e quando submetidas a uma tensão de corte, as suas moléculas ou partículas tendem a orientar-se na direcção da força aplicada. Quanto maior a taxa de deformação aplicada maior será a ordenação, e consequentemente, menor a viscosidade aparente. Os principais factores que influenciam o comportamento viscoso de uma solução ou dispersão proteica são a concentração, o seu tamanho e a razão axial (forma). Estas características são por sua vez afectadas pelas interacções proteína-solvente e pelas interacções proteína-proteína (Ramachandran *et al.*, 2007).

A figura 5.6 descreve o comportamento da consistência dos polvos. A consistência é maior no polvo fresco e no início da conservação em congelação, assim como, os desvios padrão associados são maiores. Estas observações devem-se à degradação parcial de proteínas causada por enzimas proteolíticos endógenos. O que está de acordo com os estudos no camarão (Sriket *et al.*, 2007) e na lula e choco

(Tantasuttikul *et al.*, 2011), onde as solubilidades dos péptidos e dos aminoácidos aumentaram com o tempo em conservação. Também, o trabalho de Liu *et al.* (2008), permite explicar estas observações: extrações com elevada força iónica, desnaturam e aumentam o volume hidrodinâmico das proteínas. A razão axial também aumenta, e tudo isto, causa o aumento da força de fricção entre as moléculas, conduzindo a maiores consistências.

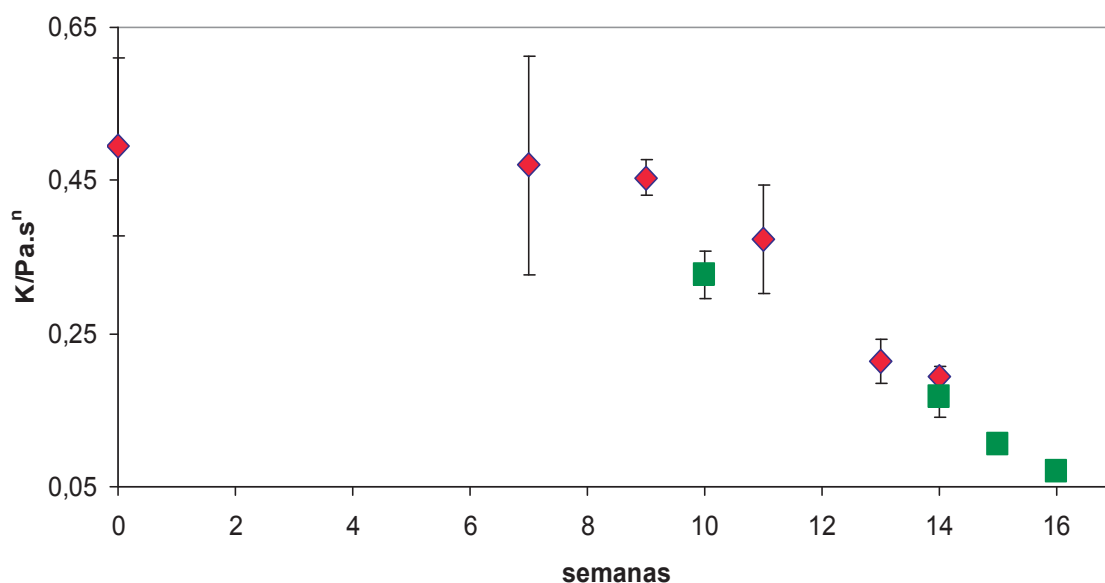


Figura 5.6 – Evolução do comportamento dos valores médios da consistência com o tempo de armazenamento em congelamento (-18°C). (Polvo congelado do Atlântico Nordeste ◆; Polvo congelado do Pacífico Nordeste ■).

A consistência diminui ao longo do tempo de armazenamento em congelamento; esta evolução depende da espécie em estudo e da sua composição química (Herrero *et al.* (2006); Gómez-Estaca *et al.* (2010); Sanchez-Alonso *et al.* (2012)). A diminuição acentuada na consistência é atribuída às transições conformacionais das proteínas, principalmente à miosina e à actina, que podem agregar e conduzir a alterações na textura e à perda da integridade do músculo de pescado (Sanchez-Alonso *et al.*, 2012).

Segundo Venugopal (2006), os invertebrados e, em particular, o polvo possuem a proteína miofibrilar, paramiosina, que estabiliza o miosistema, e equilibra os agregados formados e a proteólise produzida pela elevada quantidade de enzimas endógenos; a actividade destas enzimas é intensa, quer no estado fresco, quer em

congelado. No procedimento experimental verificou-se que os extractos, após a homogeneização em soluções salinas e o ajuste de pH, formaram agregados que precipitaram. Quando se filtraram com gaze estes extractos, possivelmente, alguns destes agregados, devido ao tamanho ficaram retidos na gaze, dando lugar a uma diminuição na concentração proteica dos filtrados, sobre os quais se realizaram as medidas de viscosidade.

A diminuição da consistência acentuou-se também, devido ao grau de integridade do músculo; o polvo esteve, durante o 2º ciclo de congelação, armazenado sob a forma triturada e homogeneizada.

As dispersões proteicas de polvo foram extraídas com soluções salinas (1:4), a uma temperatura de 20°C; esta temperatura foi superior à utilizada pela técnica de referência que é de 4°C. Segundo Liu *et al.* (2008), para temperaturas superiores a 45°C, geralmente, surgem grandes agregados proteicos no pescado. Os parâmetros reológicos tornam-se difíceis de medir, usando o viscosímetro rotacional. As propriedades reológicas das soluções de actomiosina são fortemente dependentes da temperatura, e o k decresce com o aumento da temperatura: o calor aumenta a energia e a distância entre as moléculas.

O facto da evolução reológica apontar para um fluido com natureza Newtoniana ao fim de várias semanas em conservação, só por si, não serve como indicador de qualidade, ou seja, se a consistência diminui também é possível que o músculo de polvo apresente a textura desejável para o consumidor. É sabido, que na pescada (*Merluccius merluccius*), valores reduzidos para a consistência levariam à sua rejeição devido à perda de firmeza, com a agravante do músculo estar descompartimentado por trituração e homogeneização, e desta forma, exposto às enzimas proteolíticas endógenas, que contribuiriam para a perda de textura (Herrero et al., 2006).

5.4.2 Índice de tiobarbitúrico (TBA)

O TBA é um indicador da formação de compostos secundários provenientes da oxidação lipídica. Devido ao baixo valor da fracção lipídica no polvo (composição química do polvo congelado, Tabela 5.3), a oxidação lipídica no polvo não é perceptível (Kołakowska, 2011); o malonaldeído é extremamente baixo, variando de 0,11 µg/ Kg (18 semanas) a 0,12 µg/ Kg (24 semanas) para o polvo do Pacífico Nordeste e 0,11 µg/ Kg (15 semanas) e 0,96 µg/ Kg (22 semanas) para o polvo do Atlântico Nordeste (Tabela 5.15). Os reduzidos teores em malonaldeído estão de acordo com os resultados

obtidos no trabalho de Atrea *et al.* (2009): o conteúdo inicial de TBA no polvo fresco foi baixo, 29,4 µg MDA /kg e próximo do limite de detecção do método. Na verdade, os valores de TBA entre 1000 e 1500 µg/kg são normalmente considerados como os limites, além dos quais, o pescado desenvolve odor/sabor duvidoso (Connell, 1990, citado por Atrea *et al.*, 2009).

Não obstante o polvo ter um baixo teor de gordura, metade deste teor é constituído por ácidos gordos polinsaturados que são muito vulneráveis à oxidação (Ayas, 2012). Por exemplo, o caranguejo (*Scylla serrata*), uma das fontes alimentares do polvo, apesar de ter um teor em lípidos de cerca de 0,12% no músculo das garras, o conteúdo de TBA-RS é alto, e tende a evoluir em grande extensão durante o armazenamento sob congelação (Benjakul *et al.*, 2009). Os cristais de gelo formados durante o processo de congelação podem romper as células e libertar pró-oxidantes, especialmente o ião ferroso.

A evolução do teor de malonaldeído no *Octopus vulgaris* congelado do Atlântico Nordeste, ao longo do tempo em armazenamento sob congelação, mostrou no período de indução, uma aceleração crescente do processo oxidativo face à estabilidade oxidativa apresentada pelo o polvo congelado do Pacífico Nordeste (Tabela 5.15).

Tabela 5.15 – Evolução do teor de malonaldeído com o tempo de armazenamento em congelação (-18°C).

	Tempo (Semanas)	malonaldeído (µg/kg)
Polvo Congelado do Atlântico Nordeste	15	0,11
	17	0,14
	19	0,39
	21	0,69
	22	0,96
Polvo Congelado do Pacífico Nordeste	18	0,11
	22	0,11
	23	0,11
	24	0,12

Outros factores também poderão contribuir para estes reduzidos valores no ensaio do TBA: a interferência do formaldeído (Lougovois *et al.*, 2008) e outras substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico. Este último factor causa uma incompleta absorvância a 525 nm (Moreno *et al.*, 2010). Por outro lado, como as células musculares do polvo contém elevadas quantidades de proteínas, estas poderão ser afectadas por reações oxidativas; o malonaldeído pode não reagir com o TBA devido à sua complexação com proteínas, aminas e outros compostos (Estevez, 2011). Soyer *et al.* (2010) obtiveram boas correlações entre a oxidação de lípidos e proteínas na carne de frango, durante o armazenamento em congelação. Os produtos da oxidação primária (hidroperóxidos) e secundária (aldeídos) agem como substratos na oxidação proteica, e uma vez começada a oxidação lipídica, inicia-se a oxidação de proteínas.

O teor de sal é muito elevado no polvo, quer em fresco (controlo) quer em estado congelado, quando por exemplo, comparado com o bacalhau fresco, que apresenta segundo o método de Volhard, o valor de 0,3% de sal (Thorarinsdottir *et al.*, 2011). O sal é por vezes adicionado, embora facultativo, antes da congelação do polvo, assim como outros aditivos relacionados com a crioproteção e antioxidação do polvo. O tratamento do choco (*Sépie pharaonis*), com soluções de NaCl de concentrações variando de 0,2% a 2,0%, reduzem a oxidação lipídica, assim como, a descoloração amarela (Thanonkaew *et al.*, 2007).

A organização da estrutura tridimensional no músculo de polvo segue o mesmo padrão em todas as espécies de polvo com valor comercial (Kier *et al.*, 2007), logo, o maior porte que o polvo do Pacífico Nordeste apresenta, relativamente, ao *Octopus vulgaris* do Atlântico Nordeste, constitui um importante factor que contribui para a resistência à oxidação. A cinética de deterioração do pescado pequeno é maior do que no pescado de maiores dimensões (Orban *et al.*, 2011)

O facto do polvo, no último ciclo de congelação, ter sido congelado sob a forma de um homogeneizado triturado, causou a descompartimentação celular, permitindo uma oxigenação intensiva e o contacto com substratos, metais e enzimas (Bartosz *et al.*, 2010). Segundo Kolakowska (2011), a velocidade da oxidação lipídica durante o armazenamento em congelação de arenque (*Clupea harengus*), aumenta em relação à extensão do pré-tratamento: pescado inteiro < filetes com pele < triturado sem pele < pescado eviscerado, sem cabeça < filetes sem pele.

Os ciclos de congelação também podem acelerar a oxidação proteica e lipídica e a perda da funcionalidade das proteínas. No presente trabalho, dada a pequena

concentração de malonaldeído, os dois ciclos de congelação não influenciaram a evolução da oxidação lipídica, o que vai ao encontro dos resultados obtidos por Thanonkaew *et al.*, (2006a) em que não houve diferenças significativas no teor de malonaldeído, nos dois primeiros ciclos de congelação do choco.

6. Conclusão

O presente trabalho cumpriu os objectivos propostos, confrontando as avaliações físico-químicas, e as reológicas no polvo congelado do Atlântico Nordeste e no polvo congelado do Pacífico Nordeste, tendo como amostra referência o polvo fresco do Atlântico Nordeste. A análise sensorial foi efectuada nos polvos frescos e congelados do Atlântico Nordeste, dado que as características do polvo fresco são os factores mais importantes e intimamente relacionados com a qualidade final do polvo congelado.

Os polvos congelados constituem uma boa fonte de proteína e têm baixo teor em gordura. Relativamente, aos minerais, a razão Na/K no polvo é superior no polvo congelado do Atlântico Nordeste relativamente ao polvo congelado do Pacífico Nordeste. O teor de cloretos no polvo do Pacífico é significativamente maior em relação ao polvo fresco e congelado do Atlântico.

A congelação de polvo pelo método convencional, ar forçado em túnel estático, possivelmente induziu a formação de cristais de gelo extracelulares que provocaram a contração das fibras musculares. Todavia, o pré-tratamento com sal, o curto período de armazenamento e a estrutura interna do músculo do polvo, contribuíram para atenuar os danos físicos causados pelos cristais e pelos fenómenos associados à recristalização.

As operações de apoio à operação de congelação em túnel estático, como sejam o pré-tratamento com sal e a vidragem, têm efeitos benéficos ao nível do teor de água e funcionalidade das proteínas (humidade, quebras, capacidade de retenção de água), reflectindo-se na textura do polvo. A capacidade de retenção de água do polvo congelado do Pacífico é inferior à dos dois polvos nacionais, quer o fresco e quer o congelado. Na humidade, os dois polvos apresentam maior teor de água do que o polvo fresco. No que diz respeito ao ABVT, os valores encontrados estão dentro das normas comunitárias. Todavia, os polvos congelados são os que têm maior pH e teor de ABVT, sendo o polvo congelado do Pacífico aquele que apresenta valores superiores de ABVT e de pH. Estas diferenças são devidas ao “tempering” e à recongelação por ar forçado em túnel estático, a que foi submetido o polvo do Pacífico.

Na análise sensorial do polvo fresco e congelado do Atlântico Nordeste verificaram-se diferenças significativas, nas sensações tácteis bucais (dureza e elasticidade), flavour (maresia) e no aspecto visual (cor). Podemos concluir, que ao nível sensorial o polvo congelado do Atlântico Nordeste apresenta menor dureza e elasticidade; na cor tem aspecto menos brilhante, embora a cromaticidade avaliada

instrumentalmente tenha sido maior. O brilho e o flavour a algas marinhas são mais intensos no polvo fresco. A análise dos parâmetros da cor instrumental nos polvos congelados de zonas pesqueiras distintas revela diferenças significativas na luminosidade, cromaticidade, tonalidade e diferença de cor. Os factores intrínsecos, como o tipo de dieta e o *habitat* e a própria congelação sem protecção, terão contribuindo para estes resultados.

A dureza é um dos atributos que melhora significativamente com a congelação do polvo, avaliado quer por análise sensorial da textura, quer por textura instrumental. As características biométricas únicas do polvo congelado do Pacífico contribuíram para a maior dureza reológica.

No que diz respeito à estabilidade do polvo durante o armazenamento em congelação, quando sujeito a vários ciclos de congelação, a diminuta fracção de gordura nos polvos influiu nos valores vestigiais do índice de TBA. A consistência, também mostrou ser um bom indicador da funcionalidade das proteínas durante o armazenamento em congelação.

Como perspectivas futuras seria interessante analisar a evolução dos índices de TBA, ABVT e dos parâmetros de caracterização reológica, no músculo de polvo congelado, para maiores intervalos de tempo de armazenamento em congelação.

7. Bibliografia

- Agrafioti, P.T. e Katsanidis, E. (2012). Effects of additives on the selected quality attributes and cooking yield of squid modelling and optimization. *International Journal of food properties*, **15**:579-589.
- Alizadeh, E., Chapleau, N., Lamballerie, M., Le-Bail, A. (2007). Effect of different freezing processes on the microstructure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **8**, 493–499
- Almansa, E., Domingues, P., Sykes, A., Tejera, N., Lorenzo, A., Andrade, J.P. (2006). The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture*, **256**, 403–413.
- Alvarenga, N.B. e Carvalho, M.J. (2009). *Textos de apoio às aulas de Reologia*. Instituto Politécnico de Beja-Escola Superior Agrária, Beja.
- Ameiro, G.G. (2011). Estudio de Mercado de Pulpo Congelado para el Mercado Español. ProChile, Información Comercial. (último acesso 28/8/2012, disponível em: www.prochile.cl)
- AOAC. (1998). Nitrogen (total) in seafood (940.25). In: Official Methods of Analysis, 16th, 4th revision, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Archer, M. (2008). *Glazing*. Seafish. Origin Way, Europarc, Grimsby, 1-3. (último acesso 18/2/2013, disponível em: www.seafish.org/media/Publications/FS2-05_08-Glazing.pdf).
- Arruda, L.F., Martins, P.E., Silva, A. F., Moraes, J.R., Vaz-Pires, P., Ozório, R.O., Oetterer, M. (2011). O Setor Pesqueiro em Portugal-Relato de Caso. *Bol. Inst. Pesca*, **37** (2): 199-207.
- Arvanitoyannis, I. e Varzakas, T.H. (2009a). *Seafood. HACCP and ISO 22000. Application to Foods of Animal Origin*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 360-452.
- Arvanitoyannis, I. e Varzakas, T.H. (2009b). Application of ISO 22000 and comparison with HACCP on industrial processing of common octopus (*Octopus vulgaris*) – Part I. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**, 58-78.
- Astorga España, M. S., Rodríguez, E. M., Díaz Romero, C. (2007). Comparison of mineral and trace element concentrations in two molluscs from the Strait of Magellan (Chile). *Journal of Food Composition and Analysis*, **20**, 273-279.

- Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I., Savvaidis, I. (2009). Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4°C. *Food Microbiology*. **26**, 2, 166-172.
- Ayas, D. (2012). Seasonal variations of fat and fatty acid composition in muscle tissues of Mediterranean octopuses. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, **11**(4), 724-731.
- Bahuaud, D., Gaarder M., Veiseth-Kent E., Thomassen, M. (2010). Fillet texture and protease activities in different families of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. **310**. 213–220.
- Baron, C.P., Kiarsgard, I.V.H., Jessen, F., and Jacobsen, C. (2007). Protein and lipid oxidation during frozen storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 8118-8125.
- Bartoz, G., Kolakowska, A. (2010). Lipid Oxidation in Food Systems. Chemical, Biological, and Functional Aspects of Food Lipids. Edited by Anna Kolakowska, CRC Press, 163-184.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K., Sriket, P. (2008). Effect of heating on physical properties and microstructure of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**, 1066–1072.
- Benjakul, S. e Sutthipan, N. (2009). Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage. *LWT - Food Science and Technology*, **42**, 723–729.
- Benjakul, S., Visessanguan, W. (2010). *Impacts of freezing and frozen storage on quality changes of seafoods*. Physicochemical Aspects of Food Engineering and Processing CRC Press. Devahastin, S., King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand, pp 382.
- Benjakul, S., Sungsi-in, R., Kijroongrojana, K. (2012). Effect of Treating of Squid with Sodium Chloride in Combination with Oxidising Agent on Bleaching, Physical and Chemical Changes During Frozen Storage. *Food Bioprocess Technol*, **5**:2077–2084.
- Boonsumrej, S., Chaiwanichsiti, S., Tantratian, S., Suzuki, T., Takai, R. (2007). Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus*

- monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, **80**, 292-299.
- Borderias, A.J., Jimenez-Colmenero, F., Tejada, M. (1985). Parameters Affecting Viscosity as a Quality Control for Frozen Fish. *Marine Fisheries Review*, **47**, 4, 43-45.
- Borderias, A.J. e Sanchez-Alonso I. (2011). First Processing Steps and the Quality of Wild and Farmed Fish. *Journal of Food Science*, **76**, 1, 1-5.
- Borges, A., Teixeira, M.S., Freitas, M.Q., Franco, R.M., Mársico, M.T., São Clemente, S.C. (2007). Qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada em diferentes períodos de estocagem a 0°C. *Ciência Rural*, **37**, nº 1, 259-264.
- Campanella, O.H. (2011). *Instrumental techniques for measurement of textural and rheological properties of foods*. Emerging Technologies for Food Quality and Food Safety Evaluation. Edited by Cho, Y.J., CRC Press, pp. 5–53.
- Campo-Deaño, L., Tovar, C.A., Borderías, J., Fernández-Martín, F. (2011). Gelation process in two different squid (*Dosidicus gigas*) surimis throughout frozen storage as affected by several cryoprotectants: Thermal, mechanical and dynamic rheological properties. *Journal of Food Engineering*, **107**, 107–116.
- Cardoso, C., Mendes, R., Vaz-Pires, P., Nunes, M.L. (2010). Effect of salt and MTGase on the production of high quality gels from farmed sea bass. *Journal of Food Engineering*. **101**, 98–105.
- Cardoso, C., Lourenço, H., Costa, S., Gonçalves, S., Nunes, M.L. (2013). Survey into the seafood consumption preferences and patterns in the portuguese population. Gender and regional variability. *Appetite*. Article in Press.
- Careche, M. e Barroso, M. (2009). *Instrumental Texture Measurement*. Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity. Rehbein, H e Oehlenschläger, J. John Wiley and Sons Ltd., pp. 214-239.
- Carter, C.G., Lynch, K.A., Moltschaniwskyj, N.A. (2009). Protein synthesis in a solitary benthic cephalopod, the Southern dumpling squid (*Euprymna tasmanica*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A **153**, 185–190.
- Casas, C., Martinez, O., Guillen, M.D., Pin, C., Salieron, J. (2006) Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods. *Food Control*. **17**, 511-515.
- Castigliengo, L., Armani, A., Guidi, A. (2012). *Meat Color*. Handbook of Meat and Meat Processing, Second Edition, Hui, Y.H., CRC Press, pp. 81–106.

- Castro e Silva, V.R. (2009). *Parâmetros Físicos e Histológicos das espécies de polvo Octopus vulgaris e Octopus insularis, Submetidas a processos de conservação e cocção*. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Ceará.
- Chen, L. e Opara, U.L. (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods- A review. *Food Research International*. **51**, 823-835.
- Chéreta, R., Delbarre-Ladrat, C., Lamballerie-Anton, M., Verrez-Bagnis, V. (2007). Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*, **101**, 4, 1474-1479.
- Choi, Y.J., Lin, T.M., Tomlinson, K., Park, J.W. (2008). Effect of salt concentration and temperature of storage water on the physicochemical properties of fish proteins. *Food Science and Technology*, **41**, 3, 460–468.
- Ciência Viva, IPIMAR. (2007). Avaliação sensorial da frescura de pescado. Disponível em: www.cienciaviva.pt/rede/oceanos/2desafio/fresco.asp, (último acesso em 5/2/2013).
- Concepción Aristoy, M., Mora, L., Hernández-Cázares, A. S., Toldrá, F. (2012). *Nucleotides and Nucleosides*. Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. CRC Press, pp. 57-68.
- Connell, J.J. (1990). *Control of Fish Quality*. Third ed. Fishing News Books Ltd. Surrey, UK, pp140-144.
- Connors, M.E. e Conrath, C. (2011). *New Management Challenge Kodiak*. Laboratory, Resource Assessment and Conservation Engineering Division, Alaska Fisheries Science Center, NMFS, NOAA, Kodiak, AK. Disponível em: ftp://ftp.afsc.noaa.gov/posters/pEConnors03_sea-lion.pdf, último acesso em 2/9/2012.
- Decreto-Lei nº 81/2005 de 20 de Abril; Ministério da Agricultura, Pescas e Florestas – o presente diploma Estabelece as normas que regulam a autorização de primeira venda de pescado fresco fora das lotas. *Diário da República nº 77, Série I. 20 de Abril de 2005*: 3121-3125.
- Decreto-Lei nº 37/2004, de 26 de Fevereiro; Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas – o presente diploma estabelece condições a que deve obedecer a comercialização dos produtos de pesca e aquicultura congelados, ultracongelados e descongelados. *Diário da República. Nº48. Série I. 26 de Fevereiro de 2004*: 1006-1009.

- Delgado, A.E., Sun, D. (2010). *Physicochemical changes of foods during freezing and thawing*. Physicochemical Aspects of Food Engineering and Processing. Edited by Devahastin, S., CRC Press, pp. 219–253.
- Dempsey, P. e Bansal, P. (2012). The art of air blast freezing: Design and efficiency considerations. *Applied Thermal Engineering*, **41**, 71-83.
- Derby, C.D., Kicklighter, C.E., Johnson, P.M., Zhang, X. (2007). Chemical Composition of Inks of Diverse Marine Molluscs Suggests Convergent Chemical Defenses. *J Chem Ecol.* **33**:1105–1113.
- DGPA, 2007a. Plano estratégico nacional para a pesca 2007-2013. MADRP – Direcção Geral das Pescas e Aquicultura, 84 p.
- DGPA, 2007b. Programa operacional pesca 2007-2013. Direcção Geral das Pescas e Aquicultura, 98 p.
- Direcção-Geral de Recursos naturais, Segurança e Serviços Marítimos. (2012). Artes de pesca, disponível em: www.dgpa.min-agricultura.pt/, (último acesso em 2/9/2012).
- Drummond, L. e Sun, D. (2009). *Effects of chilling and freezing on safety and quality of food products*. Processing Effects on Safety and Quality of Foods, Edited by Enrique Ortega-Rivas, CRC Press, pp. 295–321.
- Erickson, M.C., Bulgarelli, M.A., Resurreccion, A.V.A., Vendettic, R.A., Gates, K.A. (2007). Sensory differentiation of shrimp using a trained descriptive analysis panel. *Food Science and Technology*, **40**, 1774–1783.
- Erkan, N. e Özden, Ö. (2006). Gutted and Un-Gutted Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) Stored in Ice: Influence on Fish Quality and Shelf-Life. *International Journal of Food Properties*, **9**: 331–345.
- Ersoy, B., Aksan, E., Ozeren, A. (2008). The effect of thawing methods on the quality of eels (*Anguilla anguilla*). *Food Chemistry*, **111**, 377-380.
- Esteves, E., e Aníbal, J. (2007). Quality Index Method (QIM): utilização da Análise Sensorial para determinação da qualidade do pescado. *Actas do 13º Congresso do Algarve, Racal-Clube, Lagos*. Área Departamental de Engenharia Alimentar. Escola Superior de Tecnologia da Universidade do Algarve, 365-373.
- Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S. (2008). *Determination of Oxidation*. Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis. Edited by Nollet, L.M. and Toldrá, F., CRC Press, pp. 141–162.

- Estévez, M. (2011). Protein Carbonyls in meat systems: A Review. *Meat science*, **89**, 259-279.
- EU, 2006. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. JO L364, pp. 5-24.
- EU, 2008. Commission Regulation (EC) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. JO L173, pp. 6-9.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012a). *FAO Major Fishing Areas*. Disponível em: www.fao.org/fishery/area/search/en, (último acesso em 2/9/2012).
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012b). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. FAO Fisheries and Aquaculture Department Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Farag, K.W., Lyng, J.G., Morgan, D.J., Cronin, D.A. (2008). A comparison of conventional and radio frequency tempering of beef meats: effects on product temperature distribution. *Meat Science*, **80**, 488–495.
- Faustino, A. (2009). *Avaliação da Qualidade do Polvo Nacional Congelado*. Relatório de Estágio. Curso de Engenharia Alimentar. Instituto Politécnico de Beja-Escola Superior Agrária, Beja.
- Felício, J.J.M. (2011). *Distribuição de Pescado: Qualidade da matéria-prima proveniente da pesca*. Relatório Final de Estágio, Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
- Fernández, P., Otero, L., Martino, M., Molina-García, A., Sanz, P. (2008). High-pressure shift freezing: recrystallization during storage. *Eur Food Res Technol*, **227**, 1367–1377.
- Fernández-Segovia, I., Fuentes, A., Aliño, M., Masot, R., Alcañiz, M., Barat, J.M. (2012). Detection of frozen-thawed salmon (*Salmo salar*) by a rapid low-cost method. *Journal of Food Engineering*, **113**, 2, 210-216.
- Ferro Palma, S.A.P.M. (2011). *Textos de apoio às aulas de Ciência e Tecnologia da Carne*. Instituto Politécnico de Beja-Escola Superior Agrária, Beja.
- Fogaça, F. e Sant'Ana, L. (2009). Lipid oxidation in fishes: action mechanism and prevention. *Archives of Veterinary Science*, **14**, 2, 117-127.

- Fonseca, L., Corrêa, N., Filho, M., Cunha, C., Silva, N. (2006). Efeito da Composição do Solvente sobre a Estabilidade de Proteínas em Soluções Aquosas. *Química Nova*, vol. **29**, 543-548.
- Frank, D., Poole, S., Kirchhoff, S., Forde, C. (2009). Investigation of Sensory and Volatile Characteristics of Farmed and Wild Barramundi (*Lates calcarifer*) using Gas Chromatography-Olfactometry Mass Spectrometry and Descriptive Sensory Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 10302–10312.
- Fratini, G., Medina, I., Lupi, P., Messini, A., Pazos, M., Parisi, G. (2013). Effect of a finishing period in sea on the shelf life of Pacific oysters (*C. gigas*) farmed in lagoon. *Research International*, 51, 217-227.
- Fripex, Quem Somos! Historial, disponível em: <http://fripex.no.comunidades.net/>, (último acesso em 28/8/2012).
- Gecevicius, J. (2009). Line of Desintegration of Frozen Fish Blocks. GTV, Scientific Services, Lituânia. www.youtube.com/watch?v=9aDiVCyJiTI&feature=related, (último acesso em 28/8/2012).
- Geirsdottir, M., Hlynisdottir, H., Thorkelsson, G., Sigurgisladottir, S. (2007). Solubility and viscosity of herring (*Clupea harengus*) proteins as affected by freezing and frozen storage. *Journal of Food Science*, **72**, 7, 376-380.
- Ghaly, A.E., Dave, D., Budge, S., Brooks M.S. (2010). Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences*, **7** (7): 859- 877.
- Gómez-Guillén, M.C., Montero, P., Hurtado, O., Borderías, A.J. (2000). Biological Characteristics Affect the Quality of Farmed Atlantic Salmon and Smoked Muscle. *Food Chemistry and Toxicology*, Vol. **65**, 1, 53-60.
- Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Gómez-Guillén, C., Montero, P. (2010). Influence of frozen on aptitude of sardine and dolphinfish for cold-smoking process. *LWT- Food Science and Techonology*, **43**, 1246-1252.
- Gonçalves, A. A., Júnior, C. G. (2009). The effect of glaze uptake on storage quality of frozen shrimp. *Journal of Food Engineering*, **90**, 285-290.
- Gonçalves, A.C. (2010). *Qualidade e Valorização em Aquacultura. Propriedades sensoriais e storage período de conservação útil de peixe e bivalves*. Tese de Doutorado em Farmácia (Bromatologia), Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia.

- Gonçalves, J. (2012). Quantas espécies de polvos existem no litoral continental e o que as diferencia?, disponível em: www.Horta.uac.pt (último acesso em 2/9/2012).
- Herrero, A e Careche, M. (2006). Prediction of frozen storage time of Cape hake (*Merluccius capensis* and *Merluccius paradoxus*) by instrumental methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**: 2128–2133.
- Honikel, K.O. (2009). *Moisture and Water-Holding Capacity*. Handbook of Muscle Foods Analysis, Edited by Nollet, L.M.L. e Toldra, F., CRC Press, pp 315–334.
- Hsieh, Y.H.P., e Arjmandi, B. (2010). *Benefits of Seafood Consumption*. Environmental Effects on Seafood Availability, Safety, and Quality. Edited Daczowska-Kozon, E.G. e Pan, B.S., CRC Press, pp. 95–125.
- Hu, Y., Huang, Z., Li, J., Yang, H. (2012). Concentrations of biogenic amines in fish, squid and octopus and their changes during storage. *Food Chemistry*, **135**, 2604–2611.
- Hu, L., Yun, B., Xue, M., Wang, J., Wu, X., Zheng, Y., Han, F. (2013). Effects of fish meal quality and fish meal substitution by animal protein blend on growth performance, flesh quality and liver histology of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture*, 372-375, 52–61.
- INE. (2012). Estatísticas da pesca 2011. Instituto Nacional de Estatística.
- IOM. (2005). Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids cholesterol, protein, and amino acids. Washington DC, DC, USA: IOM ed, National Academic Press.
- ISO 5492 (1992). *Análise sensorial – Vocabulário*. International Standard. Genebra.
- ISO11035 (1994). *Sensory Analysis—Identification and Selection of Descriptors for Establishing a Sensory Profile by a Multidimensional Approach*. International Organization for Standardization, Switzerland.
- ISO 8586-2 (2001). *Análise Sensorial. Guia Geral para a Selecção, Treino e Controlo dos Provedores. Parte. 2: Peritos*. Instituto Português da Qualidade, Lisboa.
- Jaczynski, J., Park, A. (2006). *Safety and quality of frozen fish, shellfish, and related products*. Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Edited by Sun, D.W., CRC Press, pp. 341–376.
- James, S.S. e James, C. (2011). *Quality and Safety of Frozen Meat and Meat Products*. Handbook of Frozen Food Processing and Packaging, Second Edition, Da-Wen Sun, CRC Press, pp 303–324.

- Javadian, S, R., Rezaei, M., Soltani, M., Kazemian, M., Pourgholam, R. (2012). Effects of thawing methods on chemical, biochemical and microbial quality of frozen whole rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Food Product Technology (In Press, Accepted Manuscript)*.
- Kaale, L.D., Eikevik, T.M., Rustad, T., Nordtvedt, T.S., Bardal, T., Kjørsvik, E. (2013). Ice crystal development in pre-rigor Atlantic salmon fillets during superchilling process and following storage. *Food Control*, **31**, 491-498.
- Kato, N., Kunimoto, M., Koseki, S., Kitakami, S., Arai, K. (2009). Freshness and Quality of Fish and Shellfish (Supplementary Edition). *Journal of the School of Marine Science and Technology*, Tokai University, Vol.7, N°2, 87-89.
- Katsanidis, E. (2008). Physical and chemical pre-treatment of Octopuses aiming at tenderisation with reduced processing time and energy requirements. *Original Scientific Paper. PTEP*, 1-2, 45-48.
- Kiani, H e Sun D.W. (2011). Water crystallization and its importance to freezing of foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, **22**, 407-426.
- Kier, W. M, e Stella, M.P. (2007). The Arrangement and Function of Octopus Arm. Musculature and Connective Tissue. *Journal of Morphology*, **268**: 831–843.
- Kim, Y.N., (2009). *Vitamins*. Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. Edited by Nollet, L.M.L. e Toldrá, F., CRC Press, pp. 327–350.
- King, N. e Whyte, R. 2006. Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science*, vol.**71**, n°4, 31-40.
- Kolakowska, A. (2011). *Fish Lipids*. Chemical, Biological, and Functional Aspects of Food Lipids. Edited by Kolakowska, A., CRC Press, pp. 273–312.
- Kolbe, E. e Kramer, D. (2007). *Planning for Seafood*. Freezing Alaska Sea Grant College Program University of Alaska Fairbanks, Alaska.
- Kong, F.B., Tang, J.M., Lin, M., Rasco, B. (2008). Thermal effects on chicken and salmon muscles: Tenderness, cook loss, area shrinkage, collagen solubility and microstructure. *LWT—Food Science and Technology*, **41**, 1210-1222.
- Kong, F.B., Tang, J.M., Rasco, B., Crapo C., Smiley S. (2007). Quality changes of salmon (*O. gorbuscha*) muscle during thermal processing. *Journal of Food Science*, **72** (2), 103–111.

- Kramer, D.E., Peters, L.D., Kolbe, E. (2012). *Freezing*. The Seafood Industry: Species, Products, Processing, and Safety. Granata, L.A., Flick, G.J., Martin, R.E., Wiley-Blackwell, pp 230-248.
- Laranjinha, Lda. (2009). História. Acedido em: 2 de Dezembro de 2011, em <http://www.laranjinha.net/index.html>.
- Ladrat, C., Chéreta, R., Taylor, R., Bagnis, V. (2006). Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **46** (5), 409-421.
- Lagerstedt, A., Enfält, L. Johansson, L. and Lundström, K. 2008. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. Longissimus dorsi*. *Meat Science*, **80**: 457-461.
- Larsen, D., Quek, S., Eyres, L. (2011). Evaluating instrumental colour and texture of thermally treated New Zealand King Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and their relation to sensory properties. *LWT - Food Science and Technology*, **44**, 1814-1820.
- Leelapongwattana, K., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Howell, N.K. (2008). Effect of trimethylamine-N-oxide demethylase from lizardfish kidney on biochemical changes of haddock natural actomyosin stored at 4 and -10°C. *European Food Research and Technology*, **226**: 833-841.
- Leite, T. S. e Haimovici, M. (2006). *Biodiversidade e Habitat dos Polvos de Águas Rasas das Ilhas Oceânicas do Nordeste Brasileiro*. In: Alves, R. J. V.; Castro, J. W. A. (Ed.). Ilhas Oceânicas Brasileiras da pesquisa ao manejo. MMA, Brasília, pp. 200-214.
- Leonardo, A. (2010). *Estudo da Qualidade do Polvo-Comum (O.vulgaris) Capturado na Baía de Cascais*. Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.
- Leygonie, C., Britz, T.J., Hoffman, L.C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, **91**, 2, 93-98.
- Liu, R., Zhao, S.M., Xiong, S.B., Qiu, C.G., Xie, B.J. (2008). Rheological properties of fish actomyosin and pork actomyosin solutions. *Journal of food engineering*, **85**, 173-179.

- Lonergan, E. H., Zhang, W., Lonergan, S.M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, **86**, 1, 184–195.
- Lougovois, V.P., Kolovou, M.K., Savvaidis, I.N., Kontomina, M.G. (2008). Spoilage potential of ice-stored whole musky octopus (*Eledone moschata*). *International Journal of Food Science and Technology*, **43**, 1286–1294.
- Lourenço, H.M.G., Anacleto, P., Afonso, C., Ferraria, V., Martins, M.F., Carvalho, M.L., Lino, A.R., Nunes, M.L. (2009). Elemental composition of cephalopods from Portuguese continental waters. *Food Chemistry*, **113**, 1146–1153.
- Lourenço, H.M.G. (2011). *Essential and Toxic Elements in Fish Products Consumed in Portugal*. Doutoramento em Bioquímica (Bioquímica Farmacêutica e Toxicológica). Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Química e Bioquímica. Lisboa.
- Malaquias, M. (2009). *Darwin: polvos, vinagreiras e fósseis na terra da morabeza*. Instituto Português de Malacologia. Instituto Português de Malacologia. Portugala Nº 13, pp. 3-4.
- Mallikarjunan, P. (2011). *Physical Measurements*. Handbook of frozen food processing and packaging. Second Edition, Da-Wen Sun, CRC Press, pp. 549–562.
- Margeirsson, B., Lauzon, H. L., Pálsson, H., Popov, V., Gospavic, R., Jónsson, M., Sigurgísladóttir, S., Arason, S. (2012). Temperature fluctuations and quality deterioration of chilled cod (*Gadus morhua*) fillets packaged in different boxes stored on pallets under dynamic temperature conditions. *International Journal of Refrigeration*, **35**, 187–201.
- Martins, M. (2009). *Outros moluscos: o polvo Octopus vulgaris*. Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas-IPIMAR., C. R. I. P. Sul, Olhão, Portugal Portugala, Nº2, Instituto Português de Malocologia, pp. 5-6.
- Martinsdóttir, E., Schelvis, R., Hyldig, G., Sveinsdóttir, K. (2009). *Sensory evaluation of seafood: methods*. In: Fishery products: quality, safety and authenticity. Rehbein, H.; Oehlenschläger, J., Eds.; Blackwell Publishing Ltd; Oxford; pp. 425-443.
- Mäthger, L.M., Denton, E.J., Marshall, N.J., Hanlon, R.T. (2009). Mechanisms and behavioural functions of structural coloration in cephalopods. *J. R. Soc. Interface*, **6**, S149–S163.

- Min, B., Cordray, J., Ahn, D. (2010). Effect of NaCl, Myoglobin, Fe(II), and Fe(III) on lipid oxidation of Raw and Cooked Chicken Breast and Beef Loin. *J. Agric.Food. Chem.*, **58**, 600-605.
- Mohan, M., Ramachandran, D., Sankar, T.V., Anandan, R. (2008). Physicochemical characterization of muscle proteins from different regions of mackerel (*Rastrelliger kanagurta*). *Food Chemistry*, **106**, 451-457.
- Mohan, M., Ramachandran, D., Sankar, T.V. (2006). Functional properties of Rohu (*Labeo rohita*) proteins during iced storage. *Food Research International*, **39**, 847-854.
- Moraes, I.V. (2007). *Tecnologia do pescado*. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro REDETEC, Dossiê Técnico, pp 1-43.
- Moreira, N., Valente, L.M., Castro-Cunha, M., Cunha L.M., Guedes de Pinho, P. (2013). Effect of storage time and heat processing on the volatile profile of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) muscle. *Food Chemistry*, **138**(4), 2365-2373.
- Moreno, H. M., Carballo, J., Borderías, A.J. (2008). Influence of alginate and microbial transglutaminase as binding ingredients on restructured fish muscle processed at low temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **88**: 1529-1536.
- Moreno, H.M., Cardoso, C., Solas, M.T., Borderías, A.J. (2009). Improvement of Cold and Thermally Induced Gelation of Giant Squid (*Dosidicus gigas*) Surimi. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **18**:312–330.
- Moreno, H. M., Carballo, J., Borderías, A.J. (2010). Use of microbial transglutaminase and sodium alginate in the preparation of restructured fish models using cold gelation: Effect of frozen storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**, 394–400.
- Nguyen, M.V., Thorarinsdottir, K.A., Gudmundsdottir, A., Thorkelsson, G., Arason, S. (2011). The effects of salt concentration on conformational changes in cod (*Gadus morhua*) proteins during brine salting. *Food Chemistry*, **125**, 1013-1019.
- Noronha, J. (2012). *Provas Descritivas*. Sumários e Apontamentos de Análise Sensorial. Escola Superior Agrária de Coimbra.
- North, M.F. e Lovatt, S.J. (2011). *Freezing Methods and Equipment*. Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Da-Wen Sun, CRC Press, pp. 187–200.

- NP 2282 (1991). Pescado. Determinação da humidade. Processo de referência. Instituto Português de Qualidade, Lisboa.
- NP 2032 (1988) – Pescado. Determinação do teor de cinza. Instituto Português de Qualidade, Lisboa.
- NP 1974 (1992) – Pescado. Determinação de matéria gorda total. Instituto Português de Qualidade, Lisboa.
- NP 2929 (1988) – Pescado. Determinação do teor de cloretos. Instituto Português de Qualidade, Lisboa.
- NP 2930 (1988) – Pescado. Determinação do teor de azoto básico volátil total (ABVT). Método de Conway. Instituto Português de Qualidade, Lisboa.
- NP 3356 (1990). Pescado. Determinação do índice de ácido tiobarbitúrico (TBA). Método espectrofotométrico. Instituto Português de Qualidade, Lisboa.
- Nunes, M., Batista, I., Cardoso, C. (2007). *Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado*. Publicações avulsas do IPIMAR, Nº15.
- Nunes, M. L., Batista, I., Bandarra, N. M., Morais, M. G., Rodrigues, P. O. (2008). *Produtos da Pesca: Valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores*. Publicações Avulsas do IPIMAR, **18**:1-77.
- Ocaño-Higuera, V.M., Marquez-Ríos, E., Canizales-Dávila, M., Castillo-Yáñez, F.J., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M.E., García-Orozco, K.D., Graciano-Verdugo, A.Z. (2009). *Post mortem* changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*, **116**, 4, 933-938.
- Ocaño-Higuera, V.M., Maeda-Martínez, A.N., Canizales-Rodríguez, D.F., Marquez-Ríos, E., Castillo-Yáñez, F.J., Ruíz-Bustos, E., Graciano-Verdugo, A.Z., Plascencia-Jatomea, M. (2011). Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*, **125**, 1, 49-54.
- Olguín, M.C., Salvadori, V.O., Mascheroni, R.H., Tarzia, D.A. (2008). An analytical solution for the coupled heat and mass transfer during the freezing of high-water content materials. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, **51**, 17–18, 4379–4391.
- Orban, E., Nevigato, T., Di Lena, G., Masci, M., Casini, I., Caproni, R. (2011). Total volatile basic nitrogen and trimethylamine nitrogen levels during ice storage of

- European hake (*Merluccius merluccius*): A seasonal and size differentiation. *Food Chemistry*, **128**, 3, 679–682.
- Ozogul, Y., Duysak, O., Ozogul, F., Ozkütük, A.S., Türeli, C. (2008). Seasonal effects in the nutritional quality of the body structural tissue of cephalopods. *Food Chemistry*, **108**, 847–852.
- Ozogul, Y. (2009). *Methods for freshness quality and deterioration*. Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. Edited by Leo M. L. Nollet and Fidel Toldrá, CRC Press, pp. 189-210.
- Pacheco-Aguilar, R., Marquez-Ríos, E., Lugo-Sánchez, M.E., García-Sánchez, G., Maeda-Martínez, A.N., Ocaño-Higuera, V.M. (2008). Postmortem changes in the adductor muscle of Pacific lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) during ice storage. *Food Chemistry*. **106**, 253–259.
- Pan, J., Shen, H., Luo, Y. (2008). Cryoprotective effects of trehalose on grass carp (*Ctenopharyngodon Idellus*) surimi during frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, **34**, 715–727.
- Phan, U. e Nguyen, D. (2011). Flavor of cooked catfish (*Pangasius Hypophthalmus*) fillets as prediction from raw fresh and frozen-to-thawed. *Journal of Sensory Studies*, **27**, 12–25.
- Pearce, K.L., Rosenvold, K., Andersen, H.J., Hopkins, D.L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes. A review. *Meat Science*, **89**, 111–124.
- Pereira, J., Lourenço, H., Costa, P., Ruano, F., (2006). *O polvo comum. Aspectos sobre a sua Biologia, Ecologia, Gestão, Qualidades nutricionais, Toxicidade e potencial para Aquacultura*. Jornada científica de 31 de Outubro de 2006, IPIMAR.
- Pimenta, J. (2010). *Accumulation, Responses and Genotoxicity of Trace Elements in Octopus Vulgaris*. Doutoramento em Bioquímica. Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Portaria n.º 296/94, de 17 de Maio; Ministério do Mar. Actualiza a legislação nacional em vigor no que respeita a zonas e períodos de proibição de pesca. *Diário da República*, N.º 114. Série I. 17 de Maio de 1994: 2634-2635.

- Portaria n.º 774/2009, de 21 de Julho; Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Aprova o Regulamento da Pesca por Arte de Armadilha. *Diário da República*, 1.ª série — N.º 139 — 21 de Julho de 2009: 4565.
- Portaria n.º 296/94, de 17 de Maio; Ministério do Mar. Actualiza a legislação nacional em vigor no que respeita a zonas e períodos de proibição de pesca. *Diário da República*, N.º 114. Série I. 17 de Maio de 1994: 2634-2635.
- Prato, E., Portacci, G., Biandolino, F. (2010). Effect of diet on growth performance, feed efficiency and nutritional composition of *Octopus vulgaris*. *Aquaculture*, **309**, 203–211.
- Prester, L. (2011). Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. *Food Additives and Contaminants*, **28**, 11, 1547–1560.
- Prester, L., Orct, T., Macan, J., Vukusic, J., Kipcic, D. (2010). Determination of biogenic amines and endotoxin in squid, musky octopus, Norway lobster, and mussel stored at room temperature. *Arh Hig Rada Toksikol.* **61**:389–397.
- QIM-Eurofish. (2009). Disponível em: <http://www.qim-eurofish.com/>, acedido em 25/11/20011.
- Rahman, M.S. (2006). State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. *Trends in Food Science & Technology*, **17**, 129–141.
- Rahman, M.S., Al-Belushi, R.M., Guizani, N., Al-Saidi, G.S., Soussi, B. (2009). Fat oxidation in freeze-dried grouper during storage at different temperatures and moisture contents. *Food Chemistry*, **114**, 1257-1264.
- Raimundo, J., Vale, C., Duarte, R., Moura, I. (2008). Sub-cellular partitioning of Zn, Cu, Cd and Pb in the digestive gland of native *Octopus vulgaris* exposed to different metal concentrations (Portugal). *Science of the Total Environment*, **390**, 2-3, 410-416.
- Raimundo, J., Vale, C., Duarte, R., Moura, I. (2010). Association of Zn, Cu, Cd and Pb with protein fractions and sub-cellular partitioning in the digestive gland of *Octopus vulgaris* living in *habitats* with different metal levels. *Chemosphere*, **81**, 10, 1314-1319.
- Ramachandran, D., Mohan, M., Sankar, T.V. (2007). Physicochemical characteristic of muscle proteins from barracuda (*Sphyraena jello*) of different weight groups. *LWT— Food Science and Technology*, **40**, 1418-1426.

- Ramirez, J.A., Del Ángel, A., Uresti, R.M., Velásquez, G., Vázquez, M. (2007). Low-salt restructured products from striped mullet (*Mugil cephalus*) using microbial transglutaminase or whey protein concentrate as additives. *Food Chemistry*, **102**, 243-249.
- Regulamento (CE) nº 1022/2008 da Comissão de 17 de Outubro de 2008; Jornal Oficial da União Europeia – Altera o Regulamento (CE) n.º 2074/2005 no que se refere aos limites de azoto básico volátil total (ABVT).
- Regulamento (CE) nº 2074/2005 de 5 de Dezembro de 2005. Jornal Oficial da União Europeia, L338 – Aponta como testes de garantia de frescura no pescado (peixe, moluscos e crustáceos) a determinação do teor de azoto básico volátil total (ABVT) e a determinação de trimetilamina (TMA).
- Regulamento (CE) nº 2406/96 do Conselho de 26 de Novembro de 1996. Jornal Oficial da União Europeia – Relativo à fixação de normas comuns de comercialização para certos produtos da pesca.
- Reyes, M. (2009b). Estudios del Efecto de la Congelación y Cocción Sobre los Parámetros Físicos, Bioquímicos, Estructurales y Sensoriales del Pulpo (*Octopus spp.*). Tesis (Doctorado-Ciencia y Tecnología de Alimentos). Universidad Central de Venezuela.
- Reyes, R., Finol, H., Bello, R. (2009a). Efecto de la Congelación y la cocción sobre la ultraestrutura de brazos de pulpo (*Octopus vulgaris*). *Acta Microscópica*, Vol. **18**, No. 2, 76-80.
- Rocha, A. (2008). Conservação dos Produtos ao Longo do Tempo. Respostas da indústria de refrigeração. *Segurança e Qualidade Alimentar*, pp 33-35.
- Rodríguez, A., Carriles, N., Cruz, J.M., Aubourg, S.P. (2008). Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5°C). *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 1726-732.
- Rodriguez, A., Losada, V., Larrain, M., Quitral, V., Vinagre, J., Aubourg, S. (2007). Development of lipid changes related to quality loss during the frozen storage of farmed coho salmon (*oncorhynchus kisutch*). *Journal American Oil chemistry Society*. **84** (8): 727-734.
- Rosas-Romero, Z.G., Ramirez-Suarez, J.C., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M.E., Carvallo-Ruiz, G., García-Sánchez G. (2010). Partial characterization of an effluent produced by cooking of Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle muscle. *Bioresource Technology*, **101**, 600–605.

- Roth, B., Birkeland, S., Oyarzun, F. (2009). Stunning, pre slaughter and filleting conditions of Atlantic salmon and subsequent effect on flesh quality on fresh and smoked fillets. *Aquaculture*. **289**, 350–356.
- Roth, B., Nortvedt, R., Slinde, E., Foss, A., Grimsbø, E., Stien, L.H (2010). Electrical stimulation of Atlantic salmon muscle and the effect on flesh quality. *Aquaculture*. **301**, 85–90.
- Rustad, T. (2010). *Lipid Oxidation*. Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. Edited by Nollet, L.M.L. e Toldrá, F., CRC Press, Pages 87–95.
- Sánchez-Alonso, I., Barroso, M., Careche, M. (2011). *Instrumental Texture. Sensory Analysis of Foods of Animal Origin*. Edited by Toldrá, F., CRC Press, pp. 229–241.
- Sanchez-Alonso I., Martinez, I., Sánchez-Valencia, J., Careche, M. (2012). Estimation of freezing storage time and quality changes in hake (*Merluccius merluccius*, L.) by low field NMR. *Food Chemistry*, **135**, 1626–1634.
- Santos, J.R. (2010). *Avaliação da aceitabilidade do Manto de Pota Congelado. Análise Sensorial, Microbiológica e Quantificação do valor em ABVT*. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia e Qualidade Alimentar. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Sarnoski, P., O’Keefe, S.F.,Jahncke, M.L.,Mallikarjunan, P., Flick, G.J. (2010). Analysis of crab meat volatiles as possible spoilage indicators for blue crab (*Callinectes sapidus*) meat by gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, **122**, 930–935.
- Saura, G.R. (2008). *Especies Marinas en las Tradiciones del Campo de Cartagena*. Revista Murciana de Antropología, Nº 15, 81-93.
- Semedo, M., Reis-Henriques, M.A., Rey-Salgueiro, L., Oliveira, M., Delerue-Matos, C., Morais, S., Ferreira, M. (2012). Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in octopus (*Octopus vulgaris*) from Northwest Atlantic. *Science of the Total Environment*, 433, 230–237
- Schimdt, F.C., Carcioli, B.A.M., Laurindo, J.B. (2008). Salting operational diagrams for chicken breast cuts: Hydration-dehydration. *Journal of Food Engineering*, **88**, 36-44.
- Schubring, R. (2011). *Quality Assessment of Fish and Fishery Products by Color Measurement*. Sensory Analysis of Foods of Animal Origin. Edited by Toldrá, F., CRC Press, pp. 199–228.

- Sikorski, E.Z. e Kolakowski, E. (2010). *Seafood Quality Issues*. Environmental Effects on Seafood Availability, Safety, and Quality, Edited by E. Grayna Daczowska-Kozon and Bonnie Sun Pan, CRC Press, 19–37.
- Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsritthong, J., Ohshima, T. (2010). Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant. *Food Chemistry*, **123**, 286–290.
- Soyer, A., Özalp, B., Dalmış, Ü., Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, **120**, 4, 1025–1030.
- Sriket, P; Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K. (2007). Comparative studies on the effect of the freeze–thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle. *Food Chemistry*, **104**, 113–121.
- Sungsri-in, R., Benjakul, S., Kijroongrojana, K. (2011). Pink discoloration and quality changes of squid (*Loligo formosana*) during iced storage. *LWT - Food Science and Technology*, **44**, 206–213.
- Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Green-Petersen, D., Hylding, G., Schelvis, R., Delahunty, C. (2009). Sensory characteristics of different cod products related to consumer preferences and attitudes. *Food Quality and Preference*, **20**, 120–132.
- Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Hylding, G., Sigurgísladóttir, S. (2010). Sensory Characteristics of Different Cod Products. *Journal of Sensory Studies* **25**, 294–314.
- Syamaladevi, R.M., Manahiloh, K.N., Muhunthan, B., Sablani, S.S. (2012). Understanding the influence of state/phase transitions on ice recrystallization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *Food Biophysics*, **7**:57–71.
- Sykes, A. V., Oliveira, A.R., Domingues, P.M., Cardoso, C.M., Andrade, J.P., Nunes, M.L. (2009). Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods. *Food Science and Technology*, **42**, 429–432.
- Tan, F.L. e Fok, S.C. (2009). Freezing of tilapia fillets in an air blast freezer, *International Journal of Food Science & Technology*, **44**, 1619–1625.
- Tantasuttikul, A., Kijroongrojana, K., Benjakul, S. (2011). Quality Indices of Squid (*Photololigo duvaucelii*) and Cuttlefish (*Sepia aculeata*) Stored in Ice. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **20**:129–147.



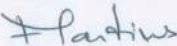
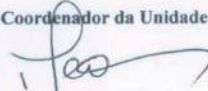


- Terra, N.N., Campos, R.M., Campagnol, P.C. (2010). *Sensory Aspects of Cooked Meats*. Sensory Analysis of Foods of Animal Origin. Edited by Fidel Toldrá, CRC Press, pp. 87-98.
- Tejada, M. (2009). *ATP-derived products and K-value determination*. In: Fishery products: quality, safety and authenticity. Rehbein, H., Oehlenschläger, J., Eds.; Blackwell Publishing Ltd; Oxford; pp. 68-88.
- Thanonkaew, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Decker, E. (2006a). The effect of metal ions on lipid oxidation, colour and physicochemical properties of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) subjected to multiple freeze-thaw cycles. *Food Chemistry*, **95**, 4, 591-599.
- Thanonkaew, A. (2006b). Effect of lipid oxidation on discoloration and physicochemical changes of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) and squid (*Loligo peali*) muscle during frozen storage. Thesis (Ph.D., Food Technology). Prince of Songkla University Faculty of Agro-Industry (Food Technology).
- Thanonkaew, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Decker, E.A. (2006c). Development of Yellow Pigmentation in Squid (*Loligo peali*) as a Result of Lipid Oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 956-962.
- Thanonkaew, A., Benjaul, S., Visessanguan, W., Decker, E. (2007). Yellow discoloration of the liposome system of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) as influenced by lipid oxidation. *Food Chemistry*, **102**, 1, 219-224.
- Thanonkaew, A., Benjaul, S., Visessanguan, W., Decker, E. (2008). The effect of antioxidants on the quality changes of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle during frozen storage. *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 161-169.
- Thawornchinsombut, S. e Park, J. W. (2006). Frozen Stability of Fish Protein Isolate Under Various Storage Conditions. *Journal of Food Science*, **71**, 3, 227-232.
- Thorarinsdottir, K.A., Ararson, S., Thorkelsson, G., Sigurgisladottir, S., Tornberg, E. (2010). The effects of presalting methods from injection to pickling, on the yields of heavily salted cod (*gadus morhua*). *Journal of food Science*, **75**, 8, 544-551.
- Thorarinsdottir, K.A., Ararson, S., Sigurgisladottir, S., Valsdottir, T., Tornberg, E. (2011). Effects of different pre-salting methods on protein aggregation during heavy salting of cod fillets. *Food Chemistry*, **124**, 7-14.
- Tironi, V., Lamballerie-Anton, M., Le-Bail, A. (2009). DSC determination of glass transition tempearture on Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle: effect of high-pressure processing. *Food Bioprocess Technol.*, **2**:374-382.

- Tironi, V., Lamballerie-Anton, M., Le-Bail, A. (2010). Quality changes during the frozen storage of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle after pressure shift freezing and pressure assisted thawing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **11**, 4, 565-573.
- Tobin, D., Kause, A., Mäntysaari, E. A., Martin, S. A. M., Houlihan, D. F., Dobly, A., Kiessling, A., Rungruangsak-Torrissen, K., Ritola, O., Ruohonen, K. (2006). Fat or lean? The quantitative genetic basis for selection strategies of muscle and body composition traits in breeding schemes for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **261**:510–521.
- Tsironi, T., Dermesonlouoglou, E., Giannakourou, M., Taoukis, P. (2009). Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. *LWT - Food Science and Technology*, **42**, 664–671.
- Vanhaecke, L., Verbeke, W., De Brabander, H.F. (2010). Glazing of frozen fish: Analytical and economic challenges. *Analytica Chimica Acta*, **672**, 40–44.
- Vasconcelos, M. e Zapata, J. (2010). Efeito sazonal sobre os ácidos graxos e colesterol do polvo *Octopus vulgaris* Cuvier 1797. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, **30** (2); 325-329.
- Vaz-Pires, P. e Barbosa, A. (2004). Sensory, microbiological, physical and nutritional properties of iced whole common octopus (*Octopus vulgaris*). *Food Science and Technology*, **37**, 1, 105–114.
- Vaz-Pires, P. (2006a). *Tecnologia do pescado*. Instituto de Ciências Biomédicas Abel-Salazar. Porto.
- Vaz-Pires, P. e Seixas, P. (2006b). Development of new quality index method (QIM) schemes for cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*). *Food Control*, **17**, 942-949.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Mota, M., Lapa-Guimarães, J., Pickova, J., Lindo, A., Silva, T. (2008). Sensory, microbiological, physical and chemical properties of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*) stored in ice. *Food Science and Technology*, **41**: 9, 1655-1664.
- Venugopal, V. (2006). *Quick Freezing and Individually Quick Frozen Products*. Seafood Processing Adding Value Through Quick Freezing, Retortable Packaging and Cook-Chilling, Edited by Venugopal, V., CRC Press, pp. 95–139.

- Venugopal, V. (2008). *Seafood Proteins: Functional Properties and Protein Supplements*. Marine Products for Healthcare Functional and Bioactive Nutraceutical Compounds from the Ocean. CRC Press, pp. 51-101.
- Villanueva, R. e Bustamante P. (2006). Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris paralarvae*. *Aquaculture*, **261**, 225–240.
- Villanueva, R., Escudero, J.M., Deulofeu, R., Bozzano, A. Casoliva, C. (2009). Vitamin A and E content in early stages of cephalopods and their dietary effects in *Octopus vulgaris paralarvae*. *Aquaculture*, **286**, 277–282.
- Xia, X., Kong, B., Liu, Q., Liu, J. (2009). Physicochemical change and protein oxidation in porcine *longissimus dorsi* as influenced by different freeze–thaw cycles. *Meat Science*, **83**, 2, 239-245.
- Xu, W., Yu, G., Xue, C., Xue, Y., Ren Y. (2008). Biochemical changes associated with fast fermentation of squid processing by-products for low salt fish sauce. *Food Chemistry*, 107, 1597–1604.
- Zaritzky, N. (2011). *Physical-chemical principles in freezing*. In Handbook of Frozen Food Processing and Packaging, ed. Sun, D.W., Boca Raton, FL: Taylor & Francis.Group, LLC, pp. 3–38.
- Zaritzky, N. (2012). *Biopolymers Used as Cryoprotectants in Food Freezing*. Biopolymer Engineering in Food Processing. Vania Regina Nicoletti Telis. CRC Press, pp. 327-384.
- Wang, W., Nema, S., Teagarden, D. (2010). Protein agregation-Pathways and influencing factors. *International Journal of Pharmaceutics*, **390**, 2, 89-99.

Anexos

Anexo I — Determinação de Metais pesados e ABVT no polvo congelado

 inrb Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I. P.	 Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território	
UNIDADE DE VALORIZAÇÃO DOS PRODUTOS DA PESCA E DA AQUICULTURA		
Amostra N°: 10370	Relatório de ensaio N°: 10370/FQS/BRO	
Pedido por: Friplex – Sociedade de Conservação e Comércio de Peixe, Lda. Rua Marquês de Pombal, 120 7520-227 Sines		
Produto e Acondicionamento: Polvo congelado, acondicionado em embalagem plástica; Ref ^{as} Lote 400, data de congelação: 19.11.2011.		
Data da recepção: 12/03/01		Página: 1/1
Data do ensaio: 12/03/05 a 12/03/09		
DETERMINAÇÕES/CÓDIGOS DOS PROCEDIMENTOS E RESULTADOS		
Teor de Azoto Básico Volátil Total (ABVT) PTMA/BRO 05 de 2008.07.11 (NP 2930:1988)	8,9 ± 0,6 mg N/100g	
Teor de Mercúrio (EPA 7473:2007)	0,026 ± 0,004 mg/kg	
Teor de Cádmio # (Espectrometria de absorção atómica)	< 0,01 mg/kg	
Teor de Chumbo # (Espectrometria de absorção atómica)	< 0,08 mg/kg	
<p>O(s) ensaio(s) assinalado(s) com # não está(ão) incluído(s) no âmbito da acreditação.</p> <p>O resultado do(s) ensaio(s) refere-se exclusivamente às unidades ensaiadas. Este relatório só pode ser reproduzido na íntegra, excepto quando haja autorização por escrito do IPIMAR. A amostragem foi da responsabilidade do cliente.</p> <p>Lisboa, 9 de Março de 2012</p>		
O Responsável de Laboratório  Maria Fernanda Martins	O Coordenador da Unidade  Maria Leonor Nunes	
		 IPAC acreditação L0258 Ensaios
 IPIMAR Avenida de Brasília 1449-006 LISBOA - PORTUGAL		
		Tel. (+351) 213027000 Fax: (+351) 213015948 E-mail ipimar@ipimar.pt

Anexo II – Glossário da Ficha de Prova

Aspecto – Conjunto de todos os atributos visíveis de uma substância ou produto (ISO 5492/1992).

Cor da carne: Sensação induzida pela estimulação da retina pelos raios de luz de vários comprimentos de onda (ISO 5492/1992). A cor interna do braço do polvo.

Brilho da carne: Característica de uma superfície lisa que reflecte luz (ISO 5492/1992).

Cheiro – Impressão produzida nos órgãos olfactivos (Dicionário da Língua Portuguesa. Porto Editora).

Intensidade do cheiro: Magnitude da sensação percebida pelo cheiro (ISO 5492/1992).

Cheiro a algas marinhas: Cheiro a algas marinhas, cheiro a mar.

Cheiro a tinta: Cheiro a tinta do polvo.

Sensações Tácteis Bucais – Sensações tácteis detectadas na cavidade bucal incluindo a língua e os dentes (ISO 5492/1992).

Adesividade: Propriedade mecânica de textura relacionada com a força necessária para deslocar (descolar) os produtos que aderem ao interior da cavidade bucal ou a um substrato. Referências: pouco colante (fraco/pasta de alteia), aderente (médio/caramelo mole), muito colante/pegajoso (elevado/arroz demasiado cozido, tapioca, manteiga de amendoim) (NP-4263/1994).

Elasticidade: Propriedade mecânica da textura relacionada com a rapidez de recuperação após a aplicação de uma força deformante e com o modo como um material deformado volta à sua condição primitiva após a força deformante ter cessado. Os principais adjectivos correspondentes aos diferentes níveis de elasticidade são: plástico (ausência/margarina), meio brando (fraco/miolo de pão), maleável (médio/gomas), elástico (elevado; lulas, ostras) (ISO 5492/1992).

Fracturabilidade: Propriedade mecânica textural relacionada com a coesão e com a força necessária para partir um produto em pedaços ou migalhas. É avaliada pela compressão brusca do produto entre os dentes incisivos (dentes frontais) ou entre os dedos (ISO 5492/1992).

Dureza: Propriedade mecânica de textura relacionada com a força requerida para obter uma deformação ou penetração de um produto. Na boca é avaliada pela compressão do produto entre os dentes (sólidos). Os principais adjectivos correspondentes a diferentes níveis de dureza são os seguintes: mole (nível baixo/queijo fresco), firme (nível médio/azeitona), duro (nível elevado/rebuçados) (ISO 5492/1992).

Sabor – Sensações mais complexas, que associam a estimulação dos gomos gustativos e células receptoras olfactivas, e dos elementos tácteis e térmicos da língua e da cavidade oral (Noronha, 2012).

Doce (sabor): Qualifica o sabor elementar provocado por soluções aquosas de diversas substâncias tais como a sacarose (ISO 5492/1992).

Salgado (sabor): Qualifica o sabor elementar provocado por soluções aquosas de diversas substâncias tais como o cloreto de sódio (ISO 5492/1992).

Amargo (sabor): Qualifica o sabor elementar provocado por soluções aquosas diluídas de diversas substâncias tais como o quinino e a cafeína (ISO 5492/1992).

Azedo (sabor): Sensação gustativa, geralmente, devido à presença de ácidos orgânicos (ISO 5492/1992).

Flavour – Conjunto complexo das sensações olfactivas, gustativas ou trigeminais perceptíveis durante a degustação (o flavour pode ser influenciado por impressões tácteis, térmicas, álgidas e/ou cinestésicas) (ISO 5492/1992).

Intensidade: Magnitude da sensação percebida pelo conjunto das sensações gustativas ou trigeminais perceptíveis durante a degustação (ISO 5492/1992).

Flavour a azedo: Sensação olfactiva e gustativa devido à presença de ácidos orgânicos.

Flavour a algas marinhas: Sensação olfactiva e gustativa a algas marinhas.

Flavour a tinta: Sensação olfactiva e gustativa a tinta do polvo.

Persistência – Sensação remanescente olfacto gustativa semelhante àquela detectada quando o produto estava na boca, e cujo tempo de duração pode ser medido (ISO 5492/1992).

Gosto Residual – Sensação olfacto gustativa que aparece após a eliminação do produto e que difere das sensações detectadas quando o produto estava na boca (ISO 5492/1992).